

**GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG  
VON CADMIUM IN MENSCHLICHEN ORGANEN ALS  
DIÄTHYLDITHIOCARBAMINSÄURE-CHELATKOMPLEX**

**HELMUT J. SCHMIDT**

**1982**







Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
der Universität München  
Direktor: Professor Dr. med. W. Spann

GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG  
VON CADMIUM IN MENSCHLICHEN ORGANEN  
ALS DIÄTHYLDITHIOCARBAMINSÄURE-  
CHELATKOMPLEX

Inaugural- Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
an der Ludwig Maximilians- Universität zu München

vorgelegt von  
Helmut J. Schmidt  
aus  
Oberschleißheim

1982

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Spann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3. August 1982



Druck: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München  
Einband: Buchbinderei Robert Ketterer, München

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für  
Rechtsmedizin der Ludwig Maximilians-  
Universität München angefertigt.

Herrn Professor Dr. med. W. Spann danke ich für  
die Überlassung des Themas und die Arbeitsmög-  
lichkeit am Institut.

Herrn Dr. rer. nat. G. Drasch, der die Anregung  
zu der vorliegenden Arbeit gab und mich stets  
mit Rat und Tat unterstützte, gilt mein besonde-  
rer Dank.

Herrn Professor Dr. med. M. Knedel und Herrn Priv.  
Doz. Dr. K. Jakob, Institut für Klinische Chemie  
des Klinikums Großhadern, danke ich für die Durch-  
führung der massenspektrometrischen Untersuchung.

Meiner Mutter gewidmet

# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                               | Seite: |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------|
| I. EINLEITUNG:                                                                | 1      |
| I.1. Bedeutung des Cadmium als Umweltgift                                     |        |
| I.2. Zielsetzung der Arbeit                                                   |        |
| II. TOXIKOLOGIE DES CADMIUM:                                                  | 5      |
| II.1. Physikalische Eigenschaften                                             |        |
| II.2. Natürliches Vorkommen und Gewinnung                                     |        |
| II.3. Technisch und toxikologisch wichtige Cadmiumverbindungen                |        |
| II.4. Industriell- technische Anwendung                                       |        |
| II.5. Vorkommen als Umweltschadstoff                                          |        |
| II.6. Aufnahmewege und Arten der Cadmium-Vergiftung                           |        |
| II.7. Metabolismus und pathophysiologische Mechanismen                        |        |
| II.8. Symptomatik der verschiedenen Vergiftungsarten                          |        |
| II.9. Therapie und Prävention                                                 |        |
| III. SPURENANALYTISCHE VERFAHREN ZUR CD- BESTIMMUNG:                          | 15     |
| III.1. Beurteilungskriterien                                                  |        |
| III.2. Dithizonmethode                                                        |        |
| III.3. Emissionsspektroskopie                                                 |        |
| III.4. Neutronenaktivierungsanalyse                                           |        |
| III.5. Polarographie und Voltammetrie                                         |        |
| III.6. Atomabsorptionsspektrometrie                                           |        |
| IV. LITERATURÜBERSICHT ÜBER DIE GASCHROMATOGRAPHIE VON METALLCHELATKOMPLEXEN: | 21     |

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| V. CHEMISCHE UND PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN<br>DER DIAKYLDITHIOCARBAMATE:                           | 24 |
| V.1. Chemische Struktur                                                                              |    |
| V.2. Präparative Darstellung                                                                         |    |
| V.3. Chemische Eigenschaften                                                                         |    |
| V.4. Bildung der Chelatkomplexe                                                                      |    |
| V.5. Wichtige physikalische Eigenschaften                                                            |    |
| V.6. Zusammenfassung                                                                                 |    |
| VI. EIGENE VERSUCHE:                                                                                 | 31 |
| VI.1. Komplexbildung, Extraktion, Stabilität:                                                        | 31 |
| 1.1. pH- Abhängigkeit der Extraktion                                                                 |    |
| 1.2. Anzahl der Ausschüttelungen                                                                     |    |
| 1.3. Reaktionszeit, Schütteldauer<br>und Phasentrennung                                              |    |
| 1.4. Mengenverhältnis von Na- DEDTC zu Cadmium                                                       |    |
| 1.5. Untersuchung verschiedener organischer<br>Lösungsmittel                                         |    |
| 1.6. Stabilitätsmessungen für verschiedene<br>Cadmiumkonzentrationen bei pH 5                        |    |
| 1.7. Maßnahmen zur Verbesserung der Stabilität                                                       |    |
| 1.8. Verwendung anderer Komplexbildner                                                               |    |
| VI.2. Gaschromatographie des $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Komplexes:                                | 60 |
| 2.1. Qualitativer Nachweis des $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ -<br>Komplexes mit dem Massenspektrometer |    |
| Gaschromatographische Parameter für <u>FID</u> -<br>und <u>N- FID</u> - Messungen:                   |    |
| 2.2. Säulenwände, Säulenlänge, Träger<br>und flüssige Phase                                          |    |
| 2.3. Trägergasfluß, Säulengeometrie<br>und Totraumvolumina                                           |    |

- 2.4. Säulentemperatur, Einspritzblocktemperatur, Detektortemperatur, Temperaturprogramme
- 2.5. Lösungsmittel, Einspritzmenge, Reproduzierbarkeit
- 2.6. Eigenschaften und Nachweisgrenze des Flammenionisationsdetektors für  $\text{Cd(DEDTC)}_2$

Gaschromatographie von  $\text{Me(DEDTC)}_n$ -Komplexen mit dem N-FID:

- 2.7. Darstellung weiterer Metalle, Identifikation des Cadmium, Trennschärfe
- 2.8. Entfernung störender Metalle
- 2.9. Quantitative Cadmiumbestimmung, Innerer Standard, Eichkurve und Nachweisgrenze mit N-FID und Glassäule
- 2.10. Empfindlichkeitsverbesserung durch Quarzglassäule, Eichkurve und Nachweisgrenze für Cadmium

#### VI.3. Anwendung der gaschromatographischen Cdbestimmung bei biologischem Material:

96

- 3.1. Zu erwartende Cd-Konzentrationen in Organen und Körperflüssigkeiten
- 3.2. Druckaufschluß, gaschromatographische und atomabsorptionsspektrometrische Cd-Bestimmung in Nieren und Lebern
- 3.3. Mineralisierung mit quaternärem Ammoniumhydroxid
- 3.4. Cd-Metalllothioneinbindung, Enzymatischer Aufschluß mit Subtilisin
- 3.5. Cadmiummessung in Urinproben

#### VII. ARBEITSANLEITUNG:

114

|                                                     |     |
|-----------------------------------------------------|-----|
| VII.1. Probenaufbereitung durch Druck-<br>aufschluß | 114 |
| VII.2. Enzymatischer Aufschluß mit<br>Subtilisin    | 117 |
| VII.3. Gaschromatographie                           | 118 |
| VIII. ZUSAMMENFASSUNG:                              | 120 |
| IX. LITERATURVERZEICHNIS:                           | 124 |

# I. EINLEITUNG

## I.1. Bedeutung des Cadmium als Umweltgift

"Cadmium gefährdet Trinkwasser" (63). "Umweltskandal- Felder auf viele Jahre hinaus mit Cadmium verseucht" (76). Diese und ähnliche Zeitungsüberschriften zeigen, daß Cadmium in den letzten Jahren in einigen aufsehenerregenden Fällen als Umweltgift in das Bewußtsein der Öffentlichkeit gerückt ist. Hierzu einige Beispiele:

- 1) Im Klärschlamm der Stadt München wurden Ende 1978 deutlich erhöhte Cadmiumkonzentrationen festgestellt. Der Klärschlamm war außerdem im Norden Münchens lange Zeit zur Düngung benutzt worden (32).
- 2) Im August 1980 wurde bekannt, daß der Klärschlamm der westfälischen Industriestadt Hagen- Vorhalle ebenfalls Cadmiumkonzentrationen aufweist, die die zulässigen Richtwerte bei weitem übersteigen. Auch dieser Klärschlamm wurde jahrelang landwirtschaftlich genutzt (76).
- 3) In Besigheim am Neckar konnten Anfang 1980 in der Umgebung eines Chemiewerkes im Erdboden stark erhöhte Konzentrationen an Cadmium gemessen werden (32).
- 4) Im Industriegebiet Oker am Harz wurden erhöhte Blei- und Cadmiumwerte in der Umwelt nachgewiesen (32).
- 5) In Shipham/ England stellte man Anfang 1979 in der Umgebung einer aufgelassenen Zinkmine exzessiv hohe Cadmiumwerte fest (9, 28).
- 6) Ebenfalls verursacht durch die Abwässer eines alten Bergwerks, waren vor ungefähr 20 Jahren in Japan Fälle von Nieren- und Knochenschäden unter dem Namen Itai- Itai- Krankheit bekannt geworden (20, 32, 38, 70).

Daß es für die betroffene Bevölkerung schwierig ist, aus den veröffentlichten Meßwerten die tatsächlich für sie bestehende Gefährdung abzuleiten, liegt auf der Hand. Denn

selbst in Fachkreisen ist man sich bei der Interpretation der Daten nicht einig, wie beispielsweise die Auseinandersetzungen um den Fall in Oker zeigen. Meßwerte für Cadmium kann man aus Boden- Abwasser- oder Grundwasserproben, aus Luftproben sowie aus pflanzlichen oder tierischen Nahrungsmitteln gewinnen. Aus all diesen Messungen läßt sich zwar abschätzen, wie stark die Bewohner eines Gebietes gefährdet sind. Dazu wurden auch rechnerische Modelle entwickelt (74). Aber die tatsächliche Cadmiumaufnahme und die damit verbundene eventuelle Giftwirkung wird nur ungenau wiedergegeben, denn bei der Abschätzung der einzelnen Aufnahmeparameter herrscht große Unsicherheit. Ein weiterer Weg ist die Untersuchung leicht zugänglicher Körperflüssigkeiten von exponierten Personen. Hierzu bieten sich Blut und Urin an. Jedoch konnte in mehreren Arbeiten gezeigt werden, daß auch diese Meßwerte keine gute Korrelation zur tatsächlichen Belastung des Organismus und damit zur Giftwirkung aufweisen (20, 27), da Cadmium eine ausgesprochene Speicherungstendenz in einigen Organen zeigt. Hauptspeicher- und Ausscheidungsorgan ist die Niere, an zweiter Stelle steht die Leber. Konzentrationen in diesen Organen können zuverlässig Auskunft über die im Körper gespeicherte Cadmiummenge geben. In den letzten Jahren wurde zwar ein Verfahren entwickelt, das mit Hilfe der Neutronenaktivierungsanalyse auch "in vivo"- Messungen an der Leber ermöglicht (27). Es ist jedoch erst bei verhältnismäßig hohen Organkonzentrationen zuverlässig und erfaßt die Nieren nicht oder nur unzureichend genau.

Deshalb erscheint es durchaus sinnvoll, die Speicherorgane Verstorbener zur Cadmiumbestimmung heranzuziehen. Man kann beispielsweise, wie es schon gelegentlich erfolgt ist, Reihenmessungen durchführen (3, 24). Durch Vergleich dieser Arbeiten kann festgestellt werden, ob etwa die tatsächliche Umweltbelastung in letzter Zeit zugenommen hat oder nicht.

## I.2. Zielsetzung der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit soll eine Methode zum gaschromatographischen Nachweis von Cadmium in biologischem Material dargestellt werden, mit der man z. B. derartige Reihenuntersuchungen durchführen könnte. Die Anwendbarkeit soll jedoch nur anhand einiger Beispiele gezeigt werden. Seit einigen Jahren ist bekannt, daß sich Schwermetallchelatkomplexe gaschromatographisch nachweisen lassen. Dies eröffnet neue Möglichkeiten in der Schwermetallanalyse. Die vielversprechenden Versuche der letzten Jahre mit den Dithiocarbamidaten lassen hoffen, daß man deren Chelatkomplexe mit verschiedenen Metallen nicht nur aus reinen wässrigen Lösungen präparativ darstellen, durch Umkristallisation reinigen und dann in höherer Konzentration chromatographisch nachweisen kann, wie in einigen Arbeiten vor allem von Neeb et al. gezeigt wurde (65, 66). Sondern es erscheint denkbar, die seit langem bekannten Carbamatextraktionsverfahren so mit der Gaschromatographie und der spurenanalytischen Probenaufbereitung zu kombinieren, daß ein einfach durchzuführender Direktnachweis von Metallen in biologischem Material möglich sein wird. Ziel der Arbeit ist es, den bekannten spurenanalytischen Standardverfahren eine Alternative gegenüberzustellen. Natürlich kann nicht erwartet werden, daß eine solche Methode bereits nach ersten Untersuchungen die üblichen Meßtechniken an Genauigkeit und Empfindlichkeit übertrifft oder den besten von ihnen gleichkommt. Dies ergibt sich z. B. schon aus der Tatsache, daß über das Gebiet der flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie bis heute Hunderte von Publikationen erschienen sind, von denen fast jede Verbesserungsvorschläge gebracht hat. Die dargestellte Methode soll bei einer weitgehend bekannten Extraktionstechnik der Dithiocarbamidate den analytischen Schritt, der bisher photometrisch durchgeführt wird, durch einen gaschromatographi-

schen Trenn- und Meßschritt ersetzen. Da die zu verwendende Gruppe der Komplexbildner nur wenig selektiv ist und vor allem sehr viele Übergangsmetalle erfaßt, ergeben sich zwei mögliche Wege der Analytik:

A) Man verwendet das Verfahren zur mehr qualitativen Multielementanalyse, d. h. man kann mit einem Chromatogramm einen Überblick über das Vorhandensein von toxischen und nicht toxischen Metallen in Proben gewinnen. Zu denken ist hier an Arsen (31) oder Thallium, Blei, Zink, Cadmium, Quecksilber, Kupfer und andere. In der vorliegenden Arbeit finden sich einige derartige Übersichtsbilder aus biologischem Material. Man kann mit Hilfe eines solchen Screeningverfahrens anhand der chromatographischen Retentionszeiten und der Peakgrößen eine Identifikation und halbquantitative Abschätzung einzelner Metalle vornehmen.

B) Der zweite Weg besteht darin, daß man sich bei der Analyse auf ein bestimmtes, toxikologisch wichtiges Metall beschränkt. Dieses soll dann aber nicht nur qualitativ nachgewiesen werden, sondern quantitativ mit einer ausreichenden Genauigkeit. In dieser Arbeit wird das Hauptaugenmerk auf das Cadmium gerichtet, nicht nur weil es zur Zeit von Interesse für die Umwelt- und Gewerbetoxikologie ist, sondern weil seine Dithiocarbaminsäurekomplexe aufgrund ihrer physikalisch-thermischen Eigenschaften für die Gaschromatographie verhältnismäßig gut geeignet sind (8, 47). Somit läßt sich die Zielsetzung der Arbeit folgendermaßen umreißen:

- 1) Optimierung des gaschromatographischen Nachweises von Cadmium als Dithiocarbaminsäurekomplex, d. h.:
  - quantitative, vollständige Extraktion des Metalls bei gleichzeitiger Stabilität der gebildeten Komplexe.
  - Verbesserung der Chromatographierbedingungen durch Variation verschiedener GC-Parameter.
  - Senkung der Nachweisgrenze für die Einzelsubstanz durch Verwendung eines empfindlichen Detektors.

- Eindeutige Identifikation des zu messenden Metalls auch bei Störeinflüssen.
  - Entfernung störender Metalle z. B. durch Maskierung.
  - Ausreichend genaue, reproduzierbare Konzentrationsmessung durch Verwendung eines "Inneren Standards".
- 2) Anwendbarmachung der Messung auf biologisches Material. Vergleich verschiedener Aufschlußmethoden.
  - 3) Möglichst einfache Handhabung der Ansätze und der Messung.
  - 4) Überprüfung der Richtigkeit des Ergebnisses mit der Atomabsorptionsspektrometrie.

## II. TOXIKOLOGIE DES CADMIUM

Das Element wurde 1817 von Strohmeyer in Göttingen entdeckt. Der Name leitet sich vom Griechischen *καδμεία* ab, womit man Mineralien bezeichnete, die wie der cadmiumhaltige Galmey mit Kupfererzen zu Messing verarbeitet wurden (30). Giftwirkungen des Metalls sind seit ungefähr 100 Jahren bekannt.

### II.1. Physikalische Eigenschaften

Cadmium ist ein silberweißes, bläulich tingiertes, weiches Metall mit einer Dichte von  $8,64 \text{ g/cm}^3$ ; Schmelzpunkt:  $320,9^\circ\text{C}$ . Siedepunkt:  $767,3^\circ\text{C}$ ; Atomgewicht: 112,40; Beim Erhitzen entzündet es sich und verbrennt zu  $\text{CdO}$ . Mit einer Ordnungszahl von 48 gehört es in die Gruppe der II B Übergangselemente zu den Zn- Elementen (30).

### II.2. Natürliches Vorkommen und Gewinnung

Es macht nur ca. 0,5 ppm der Zusammensetzung der Erdkruste

aus (70). In der Natur kommt es als Cd- Blende ( Greenockit )  $\text{CdS}$  und als Cd- Carbonat ( Otavit )  $\text{CdCO}_3$  vor. Beide Verbindungen sind fast immer Begleiter der Zinkblende  $\text{ZnS}$  und des Galmei  $\text{ZnCO}_3$ . Es gibt auf der Welt keine so bedeutenden Vorkommen, die den alleinigen Abbau von Cd- Erzen rechtfertigen würden. Deshalb fällt es immer als Nebenprodukt der Zink- oder Bleigewinnung an. Die Trennung vom Zink kann trocken geschehen: Dabei wird Zinkblende geröstet. Das edlere Cd wird schnell reduziert und verdampft eher als das Zn. In mehreren Destillationsschritten erfolgt eine Anreicherung (30). Bei der nassen Gewinnung wird die Zn und Cd enthaltende Lösung mit Zn- Staub versetzt, der das Cd zur Ausfällung bringt (30). Ein weiterer Weg ist die Elektrolyse des in Schwefelsäure gelösten Cd- Schwammes (30). Der weltweite Bedarf ist in den letzten Jahrzehnten stark angestiegen. So wurde die Weltproduktion von ca. 80 t im Jahr 1911 auf 17000 t im Jahr 1970 gesteigert (70).

### II.3. Technisch und toxikologisch wichtige Cd- Verbindungen

Cadmium kommt fast ausschließlich in zweiwertigem Zustand vor. Cadmiumoxyd: Der beim Erhitzen auftretende  $\text{CdO}$ - Rauch spielt eine große Rolle bei akuten inhalatorischen Vergiftungen. Cadmiumsulfid:  $\text{CdS}$  hat eine Bedeutung als Farbstoff und in der Halbleitertechnik.

### II.4. Industriell- technische Anwendung

1) Seine Hauptanwendung findet das Cadmium in der Herstellung von rostschützenden Überzügen auf Eisen, Stahl und Kupfer. Die Beschichtung erfolgt meist auf galvanischem Weg ( galv. "Metallisieren", "Vernickeln" (38)), aber auch durch Tauchbäder oder Aufsprühen. Angewandt werden diese Verfahren vor allem bei Blechen und Kleinteilen in der Auto-

und Flugzeugindustrie. Die Zunahme von Vergiftungsfällen wird jedoch nicht durch den Galvanisierungsprozeß, sondern durch die nachfolgende Verarbeitung wie Schweißen und Hartlöten verursacht (6).

2) Für folgende Legierungen wird Cadmium in der Metallurgie verwendet: Kupferlegierungen für die Beschichtung von Telefonkabeln oder für Schweißelektroden; Bleilegierungen für Kabelüberzüge; Wismutlegierungen für automatische Sprinkler und Feuermelder; Nickellegierungen für Lagerschalen und für Akkumulatoren ( NC- Akkus );

3) Der leuchtendgelbe Farbstoff Cadmiumsulfid wird, oft in Mischung mit anderen Farbstoffen, zur Herstellung temperaturresistenter Farben oder zur Glasfabrikation, Seifen- und Papierherstellung verwandt. Anwendungsbeispiele sind auch die Leuchtfarben für Verkehrsschilder.

4) Auch in die Kernreaktortechnik hat Cadmium Eingang gefunden. Es ist ein sehr wirksamer Neutronenabsorber (30). Deshalb wird es zur Herstellung von Steuer- und Regelstäben verwendet.

5) Verschiedene weitere Anwendungsgebiete finden sich in der Glühlampenherstellung, Zahnamalgamfüllungsherstellung, in der photographischen Industrie ( Cd- Halogenide ) und Halbleitertechnik.

Die immer breiter gefächerte Anwendung und der stark ansteigende Verbrauch führen zu:

A: Einer wachsenden arbeitsmedizinischen Bedeutung. Denn bei den Verarbeitungsschritten in allen Anwendungsbereichen bestehen mögliche Risiken.

B: Einer wachsenden Bedeutung für den Umweltschutz. Diese wurde bereits ( s. S.1 f ) angesprochen.

## II.5. Vorkommen als Umweltschadstoff

Zahlreiche Untersuchungen wurden über Cd- Konzentrationen in

tierischer und pflanzlicher Nahrung, in Trinkwasser und Atemluft angestellt (14, 18, 20, 32, 70). Bei Getreiden und Gemüse und auch einigen Pilzarten besteht die Gefahr der Cd- Anreicherung in Abhängigkeit von der Bodenkonzentration (70). Diese Bodenbelastung ist nachweislich als Folge von Eingriffen in das ökologische Gleichgewicht entstanden, z. B. Verwendung von Cd- haltigen Superphosphatdüngern oder Pestiziden (70). Besonderes Aufsehen erregte die landwirtschaftliche Nutzung von Cd- haltigem Klärschlamm. Die erhöhten Bodenkonzentrationen in Nordwestjapan im Gebiet des Jintsu- Flusses und im südenglischen Shipham wurden hingegen durch die Abwässer von Zinkminen und Hüttenwerken verursacht. Für steigende Konzentrationen in der Luft werden die Hüttenindustrie, die Ölverbrennung und die Verbrennung von Plastikabfällen verantwortlich gemacht. Bei der Allgemeinbevölkerung steht jedoch die orale Cadmiumaufnahme im Vordergrund. An erhöhten Konzentrationen des Metalls in Nahrungsmitteln ist in geringem Maß auch die Freisetzung aus Verpackungen wie Blechkonserven, aus Keramikgeschirr, aus Emaille und verzinkten Gefäßen ( besonders unter Einwirkung organischer Säuren ) schuld (70). Erwähnt seien hier Fälle akuter Massenvergiftungen durch cadmiumbeschichtete Speiseeis- und Getränkebehälter, die in den Vierziger Jahren in Amerika häufig waren (6, 22, 70). Nicht zu unterschätzen ist auch die chronisch inhalatorische Belastung, der Raucher ausgesetzt sind. Durch das Rauchen einer Schachtel Zigaretten werden ca.  $3,6 \mu\text{g}$  Cadmium aufgenommen (70) bei einer Menge von 15 bis  $18 \mu\text{g}$  im Rauch von 20 Zigaretten (40, 56).

## II.6. Aufnahmewege und Arten der Cadmiumvergiftung

Cadmiumaufnahme

|                   | Oral                                                                                                                                           | Inhalatorisch                                                                                       |                                                                                                         |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                   | Umweltbedingt:                                                                                                                                 | Umweltbedingt:                                                                                      | Arbeitsbedingt:                                                                                         |
| <u>Akut:</u>      | Gastrointestinale Symptome: z. B. durch vercadmierte Lebensmittelbehälter ( s. S. 8, 11 )                                                      | _____                                                                                               | Toxisches Lungenödem: bei Vergiftung mit CdO-Staub ( s. S. 11 )                                         |
| <u>Chronisch:</u> | Systemische Wirkung: v.a. Leber- Nieren- und Knochenschäden durch Cd in Lebensmitteln;<br>Schwerste Form: Itai- Itai- Krankheit ( s. S. 11 f ) | Lungen- u. Nierenschäden: z. B. bei zunehmender Luftverschmutzung oder bei Rauchern ( s. S. 8, 12 ) | Systemische Wirkung: Nieren- u. Leberschaden, Lungenemphysem, Anosmie durch CdO- Staub ( s. S. 12, 13 ) |

II.7. Metabolismus und pathophysiologische Mechanismen

Für das Cadmium konnte keine physiologische Funktion nachgewiesen werden. Von großer Bedeutung ist seine lange Verweildauer im menschlichen und tierischen Organismus, die durch die geringe Eliminationsrate bedingt ist. Die biologische Halbwertszeit für den Menschen beträgt ca. 30 Jahre (20, 70). Es zeigt sich eine Kumulationsneigung besonders in den Speicherorganen Niere und Leber, aber auch in Bauchspeichel-

drüse und Schilddrüse.

Aufnahme und Ausscheidung:

- Bei oraler Aufnahme großer Mengen kommt es zu einer Proteindenaturierung im Gastrointestinaltrakt (22). Cadmium wirkt somit als starkes Emetikum. Schwellendosis: 15 mg pro Person (38).
- Die orale Resorptionsquote ist mit durchschnittlich 6 % sehr gering (38), sie ist außerdem nahrungsabhängig.
- Die Resorption bei inhalatorischer Aufnahme ist wesentlich besser. Sie liegt bei 10 bis 50 % (38).
- Die Ausscheidung erfolgt in erster Linie über die Nieren, aber auch über den Darmtrakt und über Speicheldrüsen.

Pathophysiologische Mechanismen:

- Die nahe chemische Verwandtschaft des Cadmium mit dem Zink läßt es in Wechselwirkung mit dem Stoffwechsel dieses wichtigen Spurenelements treten. Cadmium verbindet sich leicht mit sulfhydryl- oder Imidazolhaltigen Proteinen. Es wirkt daher an Zn- haltigen, aber auch an Cu- und Fe- haltigen Enzymen in vielen Stoffwechselwegen als irreversibler Enzymhemmer, der eine so feste Bindung eingeht, aus der das Cadmium meist nur sehr schwer wieder zu verdrängen ist (70). In dieser Hinsicht ähnelt es dem Arsen (44). So kommt es unter anderem auch zu einer Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung in der Atmungskette (44).
- Eine besondere Rolle spielt die feste Proteinbindung auch in Hinblick auf das Vorkommen eines stark Cd- und Zn- haltigen Proteins mit niedrigem Molekulargewicht 6000 - 7000, genannt Metallothionein, das auch beim Menschen nachgewiesen wurde. Dieses in der Leber gebildete Eiweiß fungiert wohl als Transporteur verschiedener Metalle wie Cd, Zn, aber auch Hg und Cu. Es ist verantwortlich für die lange biologische Halbwertszeit des Cd und die altersabhängige Kumulation in den Speicherorganen.
- Daneben werden dem Cadmium noch direkte Giftwirkungen zu-

gesprochen (70).

## II.8. Symptomatik der verschiedenen Vergiftungsarten

Die Krankheitsbilder bei akuter und chronischer Vergiftung unterscheiden sich grundlegend.

### A) Akute Vergiftungen:

Oral: Im Vordergrund stehen die Symptome von Seiten des Magen- Darmtraktes wie Erbrechen und Diarrhoe nach Aufnahme größerer Mengen ( ab 15 mg ). Hauptursache der Vergiftung ist das Herauslösen von Cadmium aus Lebensmittelverpackungen oder Behältern (70). Deswegen wurde das Verkadmieren von Wasser- und Speiseeisbehältern schon vor gut 30 Jahren verboten (22). Akute Vergiftungen in suizidaler Absicht sind sicher äußerst selten. Hier sei nur der Fall einer Vergiftung mit 5 g Cadmiumjodid mit tödlichem Ausgang erwähnt (75).

Inhalatorisch: Hier zeigen sich die Hauptsymptome in den Atmungsorganen. Nach einer Latenzzeit von oft mehr als 24 Stunden kommt es zu einem typischen toxischen Lungenödem mit schwerer Dyspnoe. Es weist auch gewisse Ähnlichkeiten zu Vergiftungen mit nitrosen Gasen auf (44). In der Folge entstehen eine fibröse obliterierende Bronchiolitis (22) und proliferative Alveolarläsionen (6). Zu bedrohlich hohen Atemluftkonzentrationen an CdO- Dampf- oder Staub kann es beim Schmelzen oder Gießen von Cd- Metallen kommen. Außerdem beim Schweißen, Hartlöten oder Schneidbrennen von mit Cadmium überzogenen Blechen (22).

Mehrere Jahre nach einer akuten Vergiftung können die Symptome einer chronischen Vergiftung auftreten.

### B) Chronische Vergiftungen:

Oral: Im Gegensatz zur akuten Vergiftung stehen hier systemische Wirkungen im Vordergrund, die durch Kumulation in den Speicherorganen verursacht werden. Die chronische orale Vergiftung geht oft mit uncharakteristischen Beschwer-

den einher wie z. B. Müdigkeit, gastrointestinalen Erscheinungen, Leber- und Nierenerkrankungen. Ein klar zu definierendes Krankheitsbild bietet die in Japan aufgetretene Itai- Itai- Krankheit, die seit 1955 bekannt ist. Die Symptome sind: Osteomalazie (schmerzhafte Knochendestruktionen), Anämie, Chronische Gastritis und Enteropathie, Malabsorption durch Pankreasstörung, schwere Leber- und Nierenschäden (20, 38, 70).

Inhalatorisch: Sie tritt auf bei langdauernder Exposition und spielt bei Rauchern und gewerblich Belasteten, aber auch in der Umgebung von Hüttenanlagen eine zunehmende Rolle. Die potentielle Gefährdung ist bei folgenden Arbeiten besonders groß: Verarbeitung von Cd- beschichteten Blechen, siehe oben; Deswegen wurde ein MAK- Wert von  $0,1 \text{ mg/m}^3$  für CdO festgesetzt. Herstellung von Cadmiumelektroden bei der Akkumulatorenfabrikation; Herstellung von Legierungen; Auch bei diesem Krankheitsbild herrscht eine große Symptomenvielfalt: Nierenschaden, chronisch entzündliche Zerstörung der Respirationsschleimhaut mit wässrigem Schnupfen (Cadmi-umschnupfen) und Riechepithelzerstörung (Hyp- oder Anosmie) Dyspnoe, Mikrozytäre Anämie, Knochendefekte, Keimzellschäden (22).

Als absolut pathognomonisch, d. h. die Krankheitsursache beweisend muß der Cd- Saum an Zahnhälsen angesehen werden (22). Er entsteht jedoch erst nach einer mindestens zweijährigen Cd- Exposition (44). Festgestellt wurde auch ein hoher Prozentsatz an Lungenemphysemen bei Cadmiumarbeitern, der jedoch nicht mit Sicherheit auf das Metall zurückzuführen ist (44).

Die Niere ist das Hauptzielorgan für beide Formen der chronischen Vergiftung: Der Metallgehalt steigt im allgemeinen bis zum 50. Lebensjahr kontinuierlich an, um dann allmählich wieder abzusinken (38). In der Nierenrinde finden sich die höchsten Konzentrationen aller menschlichen Organe (bis 50 ppm beim Gesunden). Man nimmt an, daß das an Metallothio-

nein gebundene Cadmium glomerulär filtriert und tubulär rückresorbiert wird. Dies führt zu einer periglomerulären tubulären Nephropathie (70). Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen konnte eine Erhöhung der Lysosomenzahl und eine Mitochondrienschwellung nachgewiesen werden. Dies spricht für eine Zunahme der Entgiftungsaktivität und eine Störung der Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung in den Nierentubuluszellen (40).

Die Cadmiumnephropathie hat folgende Zeichen: Die Störung der tubulären Reabsorption zeigt sich ähnlich wie beim Fanconi- Syndrom in einer Glucos- Protein- und Aminoacidurie, einer vermehrten Calcium- und Phosphatausscheidung und einer Herabsetzung der Konzentrierungs- und Säuerungsfähigkeit (70). Auffallend ist das Auftreten eines spezifischen Proteins im Urin. Mit klinisch- chemischen Routinereaktionen kann es nicht nachgewiesen werden. Es wurde aber inzwischen als  $\beta_2$ - Mikroglobulin identifiziert (6). Die Knochendestruktionen beruhen auf einem sekundären Hyperparathyreoidismus, der durch die erhöhte Calciumausscheidung zustandekommt.

Leber: In ihr kommt es v. a. bei akuten Vergiftungen nach einiger Zeit zu sehr hohen Konzentrationen an Cadmium. Störungen betreffen hauptsächlich den Kohlenhydratstoffwechsel (70).

Blut: Im Blut findet sich eine hypochrome mikrocytäre Anämie; Die Protoporphyrinsynthese ist herabgesetzt, der Erythrocytenabbau beschleunigt, der Serumeisenspiegel erniedrigt ( Störung der Fe- Resorption )(70). Vermutlich kann die Anämie zumindest zum Teil durch den Nierenschaden mit dem daraus resultierenden Erythropoietinmangel und einer Knochenmarkshypoplasie erklärt werden. Elektrophoretisch ergibt sich eine Erniedrigung der Albuminwerte bei gleichzeitiger Erhöhung der  $\alpha_2 + \gamma$ - Globulinwerte, was für eine Leberschädigung spricht (70).

Atemorgane: Die auftretende Atemnot kann teilweise durch ein bei chronischer Inhalation entstehendes Emphysem erklärt werden, obwohl ein kausaler Zusammenhang zwischen Cd- Aufnahme und Lungenemphysem nicht gesichert werden konnte (70). Andererseits beruht die Atemnot auch auf der Anämie.

Magen- Darmtrakt: Die Itai- Itai- Krankheit führt zu einer chronischen Gastritis und Enteropathie, deren Hauptgefahr die Malabsorption, verursacht durch Pankreasstörungen und Schleimhautatrophie ist (70).

C) Weitere Beobachtungen zur Cadmiumvergiftung:

- In Tierversuchen wurden nachgewiesen (70):  
     Fertilitätsstörungen; Teratogenetische Effekte;  
     Embryotoxie;                      Kanzerogenese;
- Beim Menschen zeigt sich eine hohe Prävalenz von Prostatakarzinomen, Harnwegs- und Atemwegsmalignomen bei langdauernder Exposition (70).
- Außerdem wird eine positive Korrelation zwischen Cd- Konzentrationen in Speicherorganen und Hypertonie und arteriosklerotischen Erkrankungen postuliert. Zu verweisen ist hier auch auf die Feststellungen, daß bei Zigarettenrauchern der Cd- Blutspiegel deutlich erhöht sein soll (56, 70).

## II.9. Therapie und Prävention

Sowohl bei akuten wie chronischen Vergiftungen ergeben sich außer den diagnostischen Schwierigkeiten therapeutische Probleme. Chelatbildner wie z. B. EDTA sind wohl kontraindiziert ( die hohen Ausscheidungskonzentrationen schaden der Niere ) (70), obwohl deren Anwendung in der Literatur beschrieben ist (75). Von Nutzen ist die Gabe von Vitamin D und auch von Zink als Antagonist des Cadmiums (70). Diese Schwierigkeiten zeigen, daß es sich um eine durchwegs symptomatische Therapie handelt, und daß großer Wert auf die Prävention gelegt werden

muß. Besonders beachtet werden muß auch das Auftreten anderer Metallgifte zusammen mit dem Cadmium ( Vorkommen von Blei und Cadmium in Oker ). In derartigen Fällen ist mit einer Summation oder gar Potenzierung der Giftwirkungen zu rechnen.

### III. S P U R E N A N A L Y T I S C H E V E R F A H R E N Z U R C A D M I U M B E S T I M M U N G

Im Folgenden sei eine kurze Übersicht über die gebräuchlichen spurenanalytischen Meßverfahren zur Cadmiumbestimmung und ihre Anwendungsmöglichkeiten gegeben. Für die Beurteilung eines analytischen Verfahrens gelten die unten angeführten Zuverlässigkeitskriterien.

#### III.1. Beurteilungskriterien

Spezifität: Die Methode darf nur das zu messende Metall und keine andere Substanz erfassen. Sollte dies doch der Fall sein, so muß die störende Substanz entweder vor der Messung entfernt werden oder es muß ein Korrekturfaktor eingeführt werden.

Empfindlichkeit: ( Nachweisgrenze ) Die kleinste gerade noch nachweisbare Menge oder Konzentration des Metalls.

Präzision: Maß für den zufälligen Fehler einer Methode. Er ergibt sich bei Wiederholung der Messung derselben Probe über einen bestimmten Zeitraum. Als statistische Kenngröße dient die Standardabweichung. Die Präzision ist meist konzentrationsabhängig.

Wiederholbarkeit: Maß für die prozentuale Abweichung der Werte einer Doppelbestimmung von ihrem Mittelwert.

Richtigkeit: Maß für den systematischen Fehler einer Meß-

methode, d. h. wie weit alle Ergebnisse einer Meßserie in einer Richtung vom wahren Wert abweichen.

### III.2. Dithizon- Methode

Cadmium bildet mit Dithizon ( Diphenylthiocarbazon ) stabile rötliche Chelatkomplexe, die mit Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff extrahiert und photometrisch bestimmt werden. Die Schwierigkeit liegt in der Störanfälligkeit gegenüber anderen Metallionen, die mitextrahiert werden. Z. B. Au, Co, Hg, Tl, teilweise auch Ag, Bi, Cu, Fe(II), In, Ni, Pb, Zn; (36). Deshalb müssen zeitraubende Zwischenschritte wie beispielsweise Rückextraktionen eingeschaltet werden. Daher ist das Verfahren heute weitgehend obsolet. Es bringt außerdem die Gefahr von Spureneinschleppungen oder Spurenerlust an Cadmium mit sich. Die Empfindlichkeit ist gut . Arbeitsbereich: 10 ppb - 50 ppm (36). Über die Präzision des Verfahrens gibt es nur wenige Angaben (20). Heute wird die Dithizonextraktion mit nachfolgender wesentlich spezifischerer Detektion mittels Atomabsorptionsspektrometrie angewandt.

### III.3. Emissionsspektroskopie

Metallatome senden bei Anregung durch einen elektrischen Lichtbogen charakteristische Spektrallinien aus, die qualitative oder quantitative Messungen zulassen. Dieses Verfahren war anfangs verhältnismäßig unempfindlich: 50 µg/ g Asche Empfindlichkeit (20). Durch Verwendung größerer Probenolumina und Verbesserung der Meßtechnik konnte die Nachweisgrenze gesenkt werden. Sie liegt derzeit bei 20 ng/ Probe. Jedoch ist die Präzision nicht ausreichend, so daß sich eine Anwendung nur bei Messung höherer Konzentrationen lohnt.

### III.4. Neutronenaktivierungsanalyse

Durch Bestrahlung von Proben mit Neutronen entsteht aus dem stabilen  $^{113}\text{Cd}$  das  $^{114}\text{Cd}$ - Isotop, das ebenfalls stabil ist. Die beim Neutroneneinfang freiwerdende Energie wird in Form von Photonen charakteristischer Energie abgestrahlt. Die Messung dieser Gammastrahlung erlaubt eine quantitative Bestimmung der Cadmiumkonzentration. In den letzten Jahren wurden erfolgversprechende Meßanordnungen entwickelt. Es sei hier auf zwei Beispiele verwiesen:

Henke, Sachs und Bohn (29) untersuchten 1969 mit der Neutronenaktivierungsanalyse autoptische Lebern und Nieren von Kindern und Jugendlichen. Sie geben für ihr Verfahren eine recht gute Empfindlichkeit an ( 2ppb ). Es bleibt jedoch fraglich, ob bei der großen Anzahl von Aufbereitungsschritten eine ausreichende Präzision gewährleistet ist. Unklar bleibt auch, ob es sich beispielsweise bei den Leberwerten von Neugeborenen um Spureneinschleppungen handelt. Denn bisher wurde immer angenommen, daß dort keinerlei Cadmium zu finden sei.

Wichtiger erscheinen die Arbeiten von Harvey, Thomas, Mc- Lellan und Fremlin (27): Es gelang ihnen 1975, in vivo Messungen von Lebercadmiumkonzentrationen an Menschen durchzuführen. Die Ergebnisse bei Cd- Exponierten scheinen recht zuverlässig zu sein. Auch die Empfindlichkeit ist für eine derartige Messung sehr gut ( 1 ppm ). 1979 konnten sie bei der Bevölkerung des südenglischen Ortes Shipham ( s. S. 1 ) deutlich über den Normwert erhöhte Cadmiumkonzentrationen in der Leber messen (28). Zusammenfassend ist zu sagen, daß die Neutronenaktivierungsanalyse zwar gute Ergebnisse zu liefern vermag, aber einen sehr hohen apparativen Aufwand erfordert. ( Neutronenquelle, Gammastrahlendetektor und Rechner ) Deshalb wird ihre Anwendung wohl beschränkt bleiben.

### III.5. Polarographie und Voltammetrie

Diese beiden elektrochemischen Verfahren wurden bis heute nur in wenigen Untersuchungen zur Cadmiumbestimmung in biologischem Material herangezogen (49). Nach einer Arbeitsvorschrift von Koch und Koch (36) wird das Cadmium nach extraktiver Anreicherung mit Dithizon und Rückschütteln polarographisch bestimmt. Der Arbeitsbereich liegt bei 1 bis  $10 \mu\text{g/ml}$  Endlösung. Dies gibt bei einer 20 fachen Konzentrierung eine untere Grenze des Arbeitsbereiches von 50 ppb. Die anodische Amalgamvoltammetrie ist nach Koch und Koch (36) im Nanogrammbereich anwendbar. Es gibt jedoch für beide Verfahren auch keinen direkten Vergleich mit anderen Meßmethoden. Auch sollen sie anfällig für Einflüsse von störenden Ionen sein (36). Es läßt sich also keine Aussage über deren Präzision und Richtigkeit machen.

### III.6. Atomabsorptionsspektrometrie

Das Atomabsorptionsspektrometer besteht im Prinzip aus auswechselbaren Metалldampflampen, die ein für das zu bestimmende Metall charakteristisches Lichtspektrum aussenden, einer Optik zur Zentrierung, einem Probenraum, einem Spalt, einem Monochromator ( i. d. R. ein Gitter ) und einem Photometer mit Verstärker und Registriergerät. Die Probe wird im Strahlengang verdampft. Befinden sich Atome des zu untersuchenden Metalls im energetischen Grundzustand im Strahlengang, so absorbieren sie das Licht in Abhängigkeit von ihrer Konzentration. Die Verdampfung der Proben kann auf verschiedene Weise erfolgen: Durch einen Brenner mit einer Acetylen- oder Propanflamme oder flammenlos z. B. durch eine Graphitrohrküvette im Strahlengang, die durch Gleichstrom aufgeheizt wird. Zahlreiche Untersuchungen an biologischen Materialien wie Organen, Blut, Urin, Nahrungsmitteln u. s. w. sind in

den letzten Jahren durchgeführt worden (20). Die Empfindlichkeit der AAS ist sehr gut. Koch und Koch (36) geben für Geräte mit Acetylenbrenner einen Arbeitsbereich von 0,5 bis 5  $\mu\text{g Cd/ml H}_2\text{O}$  an ( 0,5 - 5 ppm ). Als Nachweisgrenze werden Werte um 5 bis 10 ppb genannt (5, 20). Um einen Faktor 10 bis 100 empfindlicher ist die flammenlose Graphitrohr- AAS (51). Ihr optimaler Arbeitsbereich liegt bei absolut 0,01 bis 0,1 ng (50). Dies entspricht bei einer Probenmenge von 10  $\mu\text{l}$  1 bis 10 ppb. Als Nachweisgrenze gilt  $10^{-13}$  g Cadmium. Trotz ihrer hohen Empfindlichkeit ist die AAS jedoch gegenüber Störeinflüssen anfällig. Phosphate erniedrigen die Absorptionswerte. NaCl erhöht die Absorption und führt so zu falsch hohen Meßergebnissen. Diese systematischen Fehler machen sich besonders in niedrigen Konzentrationsbereichen ( Urin, Blut ) bemerkbar. Bei höheren Konzentrationen ( Speicherorgane ) stören sie weniger (15, 20). Es wurde deshalb auf verschiedene Weise versucht, das Cadmium vor der Messung zu isolieren. Man benutzte Dithizon oder Ionenaustauscher zur selektiven Anreicherung (20). Sehr gebräuchlich sind auch Carbaminsäurederivate, z. B. das Ammoniumpyrrolidincarbat, das mit Methylisobutylketon extrahiert wird ( "APDC/ MIBK- Methode" )(20). So kann eine Trennung von Alkali- und Erdalkalimetallen und ihren Anionen erfolgen. Allerdings stellen derartige Extraktionsschritte auch zusätzliche Fehlerquellen dar, z. B. Verdünnungs- und v. a. Konzentrierungseffekte im organischen Lösungsmittel, Störung der Absorptionsmessung durch den Liganden oder seine Zersetzungsprodukte. Shendrikar et al. (60) wiesen in einer Untersuchung über Wandeffekte verschiedener Metalle im Spurenbereich darauf hin, daß Proben von Cadmium, Zink und Blei in einem APDC/ MIBK- System eine geringe Haltbarkeit aufweisen. So treten bei Lagerung von Cd- Komplexen in einem Flintglasgefäß innerhalb 24 Stunden Verluste von ca.

55 % auf, bei Zink sind es sogar über 70 %. Die Autoren führen dies auf Adsorption an den Gefäßwänden zurück, sind aber auch der Ansicht, daß eine Zersetzung der Komplexe stattfindet.

Dornemann und Kleist (11, 12) haben für die Messung von Blutcadmiumwerten ein Verfahren angegeben, das sich eines anderen Carbatatderivats und Lösungsmittels bedient ( Hexamethylenammonium- Hexamethyldithiocarbamat in Diisopropylketon/ Xylol ). Die Vorteile sind: Der Komplexbildner ergibt eine sehr hohe Ausbeute von über 98 % unabhängig von der Schütteldauer. Außerdem ist der gebildete Komplex selbst bei längerem Kontakt mit der wässrigen Phase im Gegensatz zum APDC sehr stabil. Das Diisopropylketon ist weniger polar als das häufig benutzte Methylisobutylketon. Deshalb erfolgt die Phasentrennung im Sinne einer zügigen Verarbeitung schneller. Auch ist die Gefahr, daß gelöste oder suspendierte Wasserbestandteile die Komplexe zersetzen, geringer. Weiterhin führt das Diisopropylketon anders als das MIBK beim Verdampfen in der Graphitrohrküvette nicht zur Koksbildung.

Evans, Read und Lucas (14) wiesen in einer Arbeit über den Cd- Nachweis in Lebensmittelproben darauf hin, daß die große Variationsbreite in niedrigen Konzentrationsbereichen sowohl durch einen unzureichenden Säureaufschluß, als auch durch Störungen bei der Komplexierung ( APDC + DDDC ) verursacht wird.

Ein Beispiel für die Anwendungsmöglichkeiten der AAS liefert eine Arbeit von Evenson und Anderson (15). Sie entwickelten ein Verfahren zur "Ultramikroanalyse" von Leberproben. Dabei kommen sie bei ihren Messungen mit nur 15 mg Organsubstanz aus. Eine derart geringe Menge ließe sich beispielsweise mit Leberblindpunktionen gewinnen. Außerdem liefert ihre Untersuchung eine ausführliche Studie über Störeinflüsse und Matrixeffekte bei AAS- Messungen.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die flammenlose AAS gehört zu den empfindlichsten Verfahren und findet deswegen in der Spurenanalyse des Cadmium zur Zeit am meisten Anwendung. Bei Ausschaltung oder Korrektur der Störeinflüsse lassen sich systematische Fehler vermeiden.

Leider fehlen in Europa immer noch Studien zur Qualitätssicherung und zum Vergleich der erwähnten Meßverfahren untereinander (20).

#### IV. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T Ü B E R D I E G A S C H R O M A T O G R A P H I E V O N M E T A L L C H E L A T K O M P L E X E N

Eine Reihe von Metallchelaten können in der Gasphase chromatographiert werden. Voraussetzung ist eine ausreichende Flüchtigkeit und Thermostabilität bei chemisch inertem Verhalten. Bis Anfang der Siebziger Jahre wandte sich das Hauptinteresse den  $\beta$ - Diketonen und ihren Derivaten als Chelatkomplexbildnern zu, wie eine zusammenfassende Übersicht von Rodriguez- Vazquez zeigt (55). Die Arbeit beschäftigt sich auch mit der Gaschromatographie von anorganischen Metallverbindungen wie Metallhalogeniden.

$\beta$ - Diketone: Die  $\beta$ - Diketone und ihre fluorierten Derivate sind geeignet für den Nachweis von dreiwertigen Metallen, besonders Chrom, Aluminium, für Lanthanide und das zweiwertige Beryllium (8). Da alle diese Verbindungen jedoch  $H_2O$  in Koordinationsbindung enthalten, haben sie eine schlechte Extraktionsausbeute. Sie sind deshalb für quantitative Analysen im Spurenbereich nur bedingt geeignet.

Monothio-  $\beta$ - Diketone: Diese Chelatbildner erweisen sich auch für zweiwertige Übergangsmetalle, z. B. Nickel als

brauchbar (8). Das Metall konnte bis zu Konzentrationen von  $10^{-11}$  g nachgewiesen werden (4,8). Andererseits besitzen die Thioketone eine geringere Stabilität als die  $\beta$ -Diketone (47).

$\beta$ -Ketoamine: Sie ergeben z. B. mit Ni, Pd, Pt, Co und Cu gut chromatographierbare Chelate (8, 47). Besonders mit vierzähligen Liganden können Cu und Ni gut nachgewiesen werden (72).

Salicylaldimine: Diese Komplexbildner sind zur Analyse von Zn, Cu und Ni zu verwenden (8, 47).

Dialkyldithiophosphate: Sie bilden mit Pd, Pt, Rh, Zn, Ni, Cr chromatographierbare Chelate (47).

Dialkyldithiophosphinate: Mit diesen Substanzen können Zn, Cd, Co, Ni und Pb gaschromatographisch nachgewiesen werden (35, 47). Die Bestimmungsgrenze für Cd liegt nach Kleinmann und Neeb (35) bei einigen  $10^{-8}$  g Chelat. In einer Arbeit von Flegler, Gemmer- Colos, Dencks und Neeb wird die Bestimmung von Cd und Zn als Diäthylthiophosphinat in wässrigen Lösungen beschrieben (17). Für Cadmium wird dabei ein Arbeitsbereich von 0,03 - 0,3 ppm Metall angegeben. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß eine 200 fache Konzentrierung des Extraktes vorgenommen worden ist. Mit dem Gaschromatographen wurden also 6 - 60 ppm Metall gemessen.

Dialkyldithiocarbamate:

D'Ascenzo und Wendtlandt wiesen 1969 als erste auf die gute Flüchtigkeit der Dialkyldithiocarbamate hin. Sie untersuchten beispielsweise Fe(III)- Komplexe des Diäthylthiocarbamats (10). Daughtrey, Fitchett und Mushak setzten 1975 Diäthylthiocarbamat zum Nachweis von Arsen ein. Dabei zielten sie für Dimethylarsen mit einem ECD eine Nachweisgrenze von 15 ng/ ml. Sie konnten Arsen und seine Methyl-derivate auch in Urin nachweisen (31).

Cardwell und Desarro untersuchten 1976 die Diäthylthiocarbamate ( im folgenden abgekürzt als DEDTC ) von Ni, Cu,

Pd, Zn, Cd, Hg, Pb, Pt, Ag, Fe(III) und Co(III) auf ihre gaschromatographische Eignung (8). Sie konnten zeigen, daß alle diese Metalle mit Ausnahme des Ag und Fe(III) sich bei geeigneter Wahl der Chromatographieparameter darstellen lassen. Die Ergebnisse wurden auch durch andere Arbeiten bestätigt (65, 66). Cardwell und Desarro wiesen auch auf die Möglichkeit der Substitution der Alkylreste hin, um die Trennschärfe zu verbessern.

In mehreren Arbeiten untersuchten Neeb und Mitarbeiter weitere Dialkyldithiocarbamate auf ihr thermisches Verhalten und ihre Eignung zur Gaschromatographie (66, 68). Mit Dipropyldithiocarbamat konnten sie Zn, Cu und Ni in wässrigen Lösungen quantitativ im Bereich von 0,01 - 1 ppm bestimmen (25). Die Proben wurden aber sowohl bei der Extraktion, als auch durch Eindampfen stark konzentriert ( 500 fach ).

In weiteren Artikeln untersuchten Neeb et al. Di(trifluor-äthyl)- Dithiocarbamate (67). Diese Substanzen weisen im Gegensatz zum DEDTC wesentlich höhere Dampfdrucke auf und führen zu einer vollständigen Verflüchtigung. Deshalb können die fluorierten Carbamate auch bei niedrigen Säulentemperaturen mit Vorteil zur anorganischen Multielementanalyse eingesetzt werden (67).

Einige Arbeiten beschäftigten sich auch mit der molekularen Struktur, die die Dithiocarbamatkomplexe bei höheren Temperaturen einnehmen. Dabei konnte für Zn und möglicherweise auch Cd das Auftreten von dimeren Verbindungen nachgewiesen werden (1). Ahmad und Aziz erzielten für  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  und einige andere Metalle ( Pb, Zn, Ni, Hg ) mit einem ECD eine Nachweisgrenze von ca. 5 ng Chelat (1). Bei vorheriger Konzentrierung der Extrakte ließe sich nach ihrer Ansicht Cd bis ca.  $10^{-11}$  g nachweisen.

Zusammenfassung: Die Dialkyldithiocarbamate sind neben

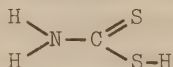
den Dialkyldithiophosphinaten bisher die einzigen Chelatbildner, die zum gaschromatographischen Cadmiumnachweis geeignet erscheinen. In den erwähnten Arbeiten wurde die prinzipielle Anwendbarkeit zur Schwermetallspurenanalyse nachgewiesen. Untersuchungen an biologischem Material zur Bestimmung von Cadmium oder anderen Metallen als Carbamatkomplexe wurden bisher u. W. nicht durchgeführt, wenn man davon absieht, daß Arsen nach Zusatz zu Urin nachgewiesen werden konnte (31).

## V. C H E M I S C H E U N D P H Y S I K A L I S C H E E I G E N S C H A F T E N D E R D I A L K Y L - D I T H I O C A R B A M A T E

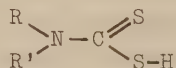
( Dargestellt am Natriumdiäthylthiocarbamat )

### V.1. Chemische Struktur

Der Grundkörper der Substanzklasse der Dialkyldithiocarbamidsäuren ist die unsubstituierte Dithiocarbamidsäure (69):

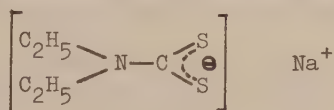


Von ihr gibt es monosubstituierte und disubstituierte Derivate:



Die monosubstituierten Derivate ( R = H ) sind wenig gebräuchlich. Die in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich angewandte Substanz ist die Diäthylthiocarbaminsäure bzw.

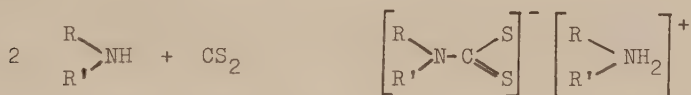
ihr Natriumsalz, das Na- Diäthylthiocarbamat ( eigentlich: Diäthylthiocarbamidat ), abgekürzt: DEDTC



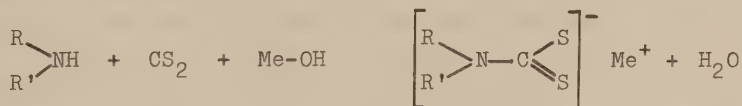
## V.2. Präparative Darstellung:

Die Salze der Dithiocarbamidsäure und ihrer Derivate lassen sich folgendermaßen herstellen (69):

A) Umsetzung von 1 Mol Schwefelkohlenstoff mit 2 Mol eines sekundären Amins ergibt das Ammonium- Dithiocarbamat des eingebrachten Amins:



B) Umsetzung von äquimolaren Mengen Schwefelkohlenstoff, Amin und Ammonium- oder Alkalimetallhydroxid ergeben die entsprechenden Salze:



Me = Alkalimetall, aber auch  $\text{NH}_4^+$

Diese Methode ist im Gegensatz zu A) auch für aromatische, d. h. weniger basische Amine geeignet.

C) Natriumamidmethode: V. a. für Substituenten mit sehr geringer Basizität anwendbar. Zuerst Überführung der Amine mit Natrium oder Natriumamid in die entsprechenden Na- Verbindungen; dann erfolgt die Umsetzung mit Schwefelkohlenstoff:



Bei allen Methoden erfolgt die Reindarstellung der Substanzen durch Eindampfen und mehrmaliges Umkristallisieren.

### V.3. Chemische Eigenschaften

Die Alkali- Erdalkali- und teilweise auch die Ammoniumsalze der Dialkyldithiocarbamidsäuren sind gut wasserlöslich. Sie bilden mit zahlreichen anderen Metallen schwerlösliche, ausfallende Chelatkomplexe. Die so entstehenden Verbindungen lassen sich v. a. mit organischen Lösungsmitteln mit endlichem Dipolmoment wie z. B. Chloroform gut extrahieren. Einen Überblick über die mit dem hier in erster Linie angewandten Na- DEDTC fäll- bzw. extrahierbaren Metalle gibt Abbildung 1.

Abb. 1: Metallextraktion mit Na- DEDTC und organischen Lösungsmitteln. Nach KOCH, KOCH- DEDIC (36).

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Li | Be |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | B  | C  | N  | O  | F  |
| Na | Mg |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Al | Si | P  | S  | Cl |
| K  | Ca | Sc | Ti | V  | Cr | Mn | Fe | Co | Ni | Cu | Zn | Ga | Ge | As | Se | Br |
| Rb | Sr | Y  | Zr | Nb | Mo | Tc | Ru | Rh | Pd | Ag | Cd | In | Sn | Sb | Te | I  |
| Cs | Ba | La | Hf | Ta | W  | Re | Os | Ir | Pt | Au | Hg | Tl | Pb | Bi | Po | At |
| Fr | Ra | Ac |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|    |    |    | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
|    |    |    | Th | Pa | U  | Np | Pu | Am | Cm | Bk | Cf | Es | Fm | Md | No |    |

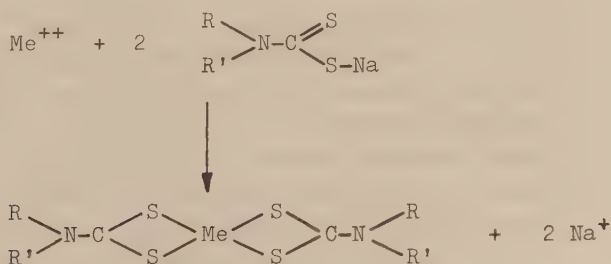
———— = Vollständige Extraktion      - - - - - = Teilweise Extraktion

Dabei zeigt sich, daß das Na- DEDTC eine Reihe von spuren-analytisch interessanten Elementen komplexieren kann. Da es sich um eine Gruppenextraktion handelt, kann es bei Extraktion und gaschromatographischem Nachweis zu Störungen durch einzelne Metalle kommen, was besonders beachtet werden muß. Ein großer Vorteil sämtlicher Dithiocarbamatderivate ist, daß es zu keiner Extraktion von Alkali- und Erdalkalimetallen kommt, da sie keine Chelate bilden. Dies ist um so wichtiger, als diese in biologischem Material in z. T. erheblichen Konzentrationen vorliegen (  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  ) und die Spurenanalyse beeinträchtigen können ( s. S. 19 ).

#### V.4. Bildung der Chelatkomplexe

Die sich in der wässrigen Phase abspielende Chelatisierungsreaktion eines Metalles geschieht in folgender Weise:

Chelatliganden benötigen mindestens zwei freie Elektronenpaare. So kann ein Ringgebilde entstehen, das das Metallatom scherenförmig umfaßt. Zweiwertige Metalle wie z. B. Cadmium bilden bis( N,N- Dialkyldithiocarbamat ) Metall(II)- Komplexe; z. B.  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$



Daneben kommen auch Komplexe von einwertigen und dreiwertigen Metallen vor. Aufgrund ihrer Chelatbildung weisen die entstehenden Komplexe eine gute Stabilität auf. Diese wird

beeinflusst durch:

- A) Die Substituenten an den Liganden: R und R'
- B) Das Metall als Zentralatom. Untersuchungen über Verdrängungsreaktionen mit verschiedenen Metallen (36) für das Na- DEDTC zeigen eine abnehmende Stabilität in der Reihe von links nach rechts:  
Hg- Ag- Cu- Bi- Pb- Cd      d. h. daß Hg aufgrund des geringsten Löslichkeitsproduktes in dieser Reihe alle anderen Metalle aus ihrer Komplexbindung freisetzt. Andererseits wird die Beurteilung der Bildungsfähigkeit und Stabilität der verschiedenen Komplexe dadurch erschwert, daß sich in der Literatur keine Angaben über Stabilitäts- und Zerfallskonstanten finden.
- C) pH der wässrigen Phase
- D) Organisches Lösungsmittel
- E) Temperatur
- F) Lichteinwirkung

#### V.5. Wichtige physikalische Eigenschaften der Dialkyldithiocarbamate

##### A) Farbe und photometrische Extinktion:

Die Chelatkomplexe der verschiedenen Metalle sind teilweise farbig, teilweise farblos. Sie weisen alle eine charakteristische Lichtabsorption und einen sehr hohen molaren Extinktionskoeffizienten auf. Dies ermöglicht eine empfindliche und recht spezifische photometrische Messung.

Farben: Cu(II)- braunrot; Fe(III)- graurot; Cd(II)- farblos  
Co(III)- grün; Ni(II)- hellgelb; Hg(II)- farblos;  
Pb(II)- farblos; Tl(I)- farblos; Tl(III)- gelb;

##### B) Dampfdruck und Flüchtigkeit:

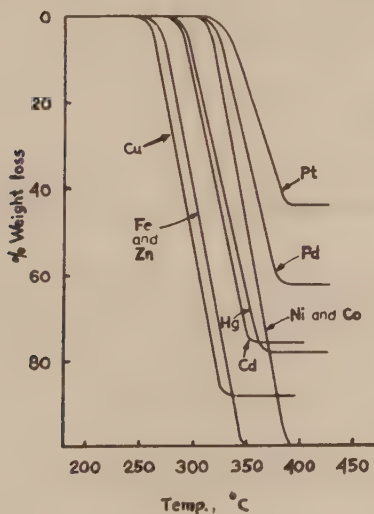
Die gute Flüchtigkeit bei verhältnismäßig geringer Zerset-

zung ermöglicht es, einige Dithiocarbamatkomplexe gaschromatographisch zu untersuchen. Die Flüchtigkeit ist einerseits vom Metall, andererseits von der Substitution der Liganden abhängig. Mit dem thermalen Verhalten der Diäthyl-dithiocarbamate beschäftigt sich beispielsweise die Arbeit von Cardwell, Desarro und Uden (8):

Sie untersuchten folgende Metallkomplexe: Cu(II), Fe(III), Zn(II), Hg(II), Cd(II), Ni(II), Co(III), Pd(II), Pt(II). Dabei stellten sie fest, daß sämtliche untersuchten Metalle eine gute Temperaturstabilität aufweisen. Die Zusammenstellung der Thermogramme verschiedener Metalle, darunter auch Cadmium zeigt die folgende ihrer Arbeit entnommene Abbildung.

Abb. 2: Thermogramme der DEDTC- Komplexe einiger Metalle: Cu(II), Fe(III), Zn(II), Hg(II), Cd(II), Ni(II), Co(III), Pd(II), Pt(II).

Aus: CARDWELL, DESARRO, UDEN (8).



Dabei zeigt sich, daß sich Ni, Zn, Fe und Co bei den zu erwartenden gaschromatographischen Arbeitstemperaturen vollständig verflüchtigen. Die übrigen Komplexe erweisen sich als unvollständig flüchtig und zeigen auch Zeichen einer thermischen Zersetzung. Jedoch sind Cardwell und Mitarbeiter der Meinung, daß diese übrigen Metalle ( Cu, Hg, Cd, Pd, Pt ) auch chromatographierbar sind, wenn die Temperaturbedingungen so gewählt werden, daß eine möglichst schnelle Verflüchtigung bei geringer Zersetzung eintritt. Für Cadmium beginnt die Verflüchtigung bei ungefähr  $280^{\circ}$  C. Von Bedeutung ist auch, daß die Verflüchtigung in einem Schritt und nicht stufenweise erfolgt.

Über die Eignung weiterer Dialkyldithiocarbamate zum gaschromatographischen Metallnachweis finden sich ausführliche thermographische Untersuchungen in einer Arbeit von Tavlaridis und Neeb (68). Ebenfalls das thermische Verhalten einiger Nickel- Dialkyldithiocarbamate wurde von Krupčik und Mitarbeitern untersucht (37). Auf sehr gute thermische Eigenschaften einiger Di(trifluoräthyl)- Dithiocarbamatochelate und vielversprechende gaschromatographische Untersuchungen weisen Tavlaridis und Neeb hin (67).

#### V.6. Zusammenfassung

Die bisher im Zusammenhang mit der Gaschromatographie von Diäthylthiocarbamatchelaten veröffentlichten Arbeiten ergeben also:

- Es ist grundsätzlich möglich, mit diesen Komplexbildnern einige der gut extrahierbaren Metalle chromatographisch nachzuweisen.
- Die Nachweisbarkeit ist für verschiedene Metalle unterschiedlich gut.
- Die nachweisbaren Konzentrationen sind in den meisten

Fällen so hoch, daß eine Anwendung für die Spurenanalyse nicht in Frage kommt.

- Bisher wurde biologisches Material, dessen Aufbereitung weitere Schwierigkeiten mit sich bringt, bis auf wenige Ausnahmen (31) nicht zur gaschromatographischen Schwermetallbestimmung herangezogen.

Die aufgeführten physikalischen Eigenschaften der DEDTC-Komplexe und die Ergebnisse der bisher veröffentlichten Untersuchungen lassen jedoch hoffen, speziell für Cadmium einen Nachweis in biologischem Material durchzuführen.

## VI. E I G E N E V E R S U C H E

Die nachfolgenden Versuche lassen sich in drei Problemkreise aufgliedern:

- 1) Bildung, Extraktion, Stabilität der Cd- Komplexe ( VI.1. )
- 2) Gaschromatographischer Nachweis ( VI.2. )
- 3) Geeignete Aufarbeitungsmethoden für das biologische Material ( VI.3. )

### VI.1. Komplexbildung, Extraktion, Stabilität

Allgemeines: Nach Angaben von Koch und Koch läßt sich Cadmium als  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  in einem pH- Bereich von 2 - 14 ausfällen oder mit  $\text{CHCl}_3$  vollständig extrahieren (36). Als Lösungsmittel eignen sich halogenierte Kohlenwasserstoffe besser als Äther, Ester oder höhere Alkohole. Unter den Halogenkohlenwasserstoffen sind wiederum solche mit einem endlichen Dipolmoment besser geeignet als solche mit dem Dipolmoment 0 wie

z. B. Perchloräthylen und Tetrachlorkohlenstoff. Außerdem wird auch Äthylacetat als brauchbar bezeichnet. Die Extraktionsausbeute wird außer durch den Ligandenüberschuß auch durch das Volumenverhältnis zwischen wässriger und organischer Phase bestimmt (47). Je größer dieses ist, desto schlechter ist bei einem gegebenen Verteilungskoeffizienten  $Q_E$  des Komplexes die Ausbeute. Das Volumenverhältnis sollte also 1 : 1 oder kleiner sein, jedoch einen Faktor 1 : 5 nicht übersteigen.

Geräte und Reagenzien:

Gaschromatographen: Pye 104 und HP 5830, beide mit FID und N- FID. Säulen: 5 % OV 101 auf Chromosorb W HP 80/100 mesh Länge 1 m; Weitere Bedingungen siehe auf Seite 119.

Cadmiumstammlösungen: 100 ppm u. 1000 ppm aus  $CdSO_4$  in 0,1 n  $HNO_3$ .

Na- DEDTC- Lösung:  $10^4$  ppm in demineralisiertem Wasser.

### 1.1. pH- Abhängigkeit der Extraktion:

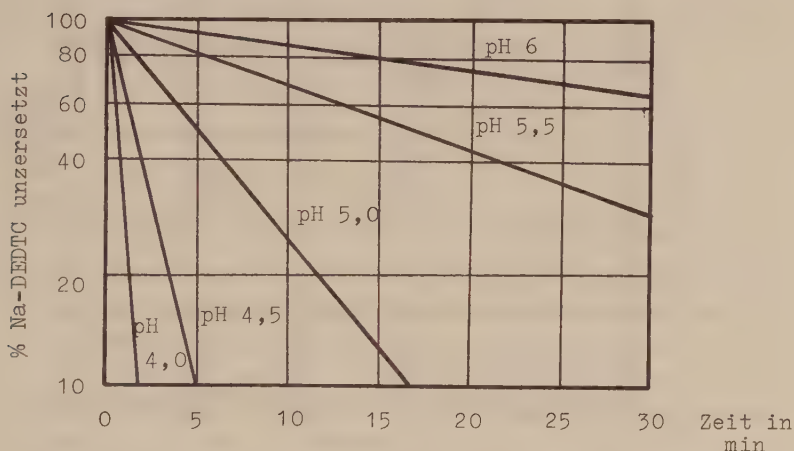
Problemstellung: Für die folgenden Versuche wird ein Arbeits- pH benötigt, der leicht einzustellen ist, außerdem eine ausreichende Stabilität der Komplexe gewährleistet und zu einer reproduzierbaren Ausbeute führt. Der pH der wässrigen Lösung ist verantwortlich für das Verhalten des zugesetzten Na- DEDTC:

a) Zersetzungsgeschwindigkeit: Die pH- Abhängigkeit der Zerfallshalbwertszeit für Na- DEDTC zeigt Abbildung 3 nach Koch und Koch (36). Die Halbwertszeit verringert sich bei Abnahme des pH- Werts um eine Stufe auf den jeweils zehnten Teil. Somit ist die Zerfallsgeschwindigkeit der  $H^+$ - Ionenkonzentration direkt proportional ( siehe Seite 48 ). Es muß also, um quantitativ arbeiten zu können, ein genügender Reagensüberschuß zugesetzt werden und außerdem ent-

sprechend schnell gearbeitet werden (s. S. 41).

Abb. 3: Einfluß des pH- Wertes auf die Zersetzungsgeschwindigkeit des Na- DEDTC:

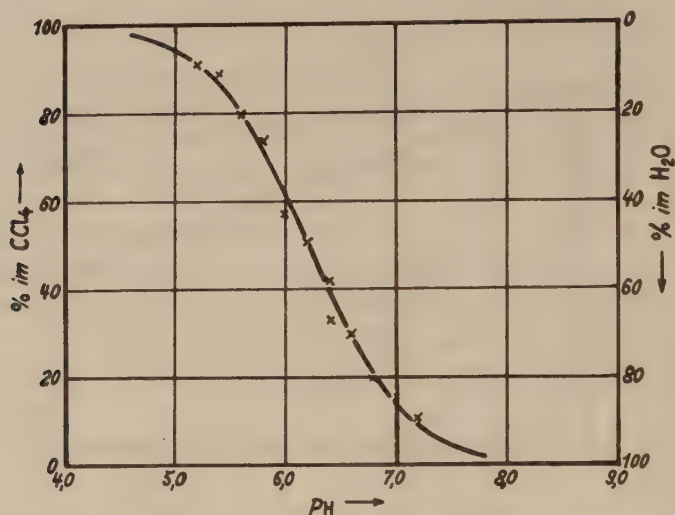
Aus KOCH, KOCH- DEDIC (36)



Andere disubstituierte Dithiocarbamate sind dem Na- DEDTC in Hinblick auf ihre Haltbarkeit überlegen. Koch und Koch nennen Dibenzylldithiocarbamat und Diäthylammonium- Diäthylldithiocarbamat (36). Auch das von Neeb und Mitarbeitern verwendete Di(trifluoräthyl)- Dithiocarbamat weist eine hohe Säurestabilität auf (69). Zum Mechanismus des Zerfalls siehe Seite 48.

b) Verteilung der freien Säure zwischen wässriger und organischer Phase: Das Gleichgewicht zwischen dem Anion und der freien Säure des Komplexbildners verlagert sich mit abnehmendem pH immer mehr in Richtung auf die freie Säure, die dann in die organische Phase übertreten kann. Abbildung 4 (36) zeigt, daß diese Extraktion unter pH 8 merklich beginnt und bei pH 5 eine Ausbeute von über 90 % erreicht.

Abb. 4: Verteilung der Diäthylthiocarbaminsäure zwischen wässriger und organischer Phase in Abhängigkeit vom pH: Nach KOCH, KOCH- DEDIC (36).



Jedoch ist dieser Übertritt von freier Säure, der z. B. beim direkten photometrischen Nachweis stört, für die Gaschromatographie nicht unbedingt von Nachteil: Es stellt sich auch im Organischen ein Gleichgewicht zwischen dem freien Komplexbildner und dem Metallkomplex ein. Außerdem ist eine gute gaschromatographische Trennung des gebildeten Cd- Chelats von der freien DEDTC- Säure bzw. ihren Zerfallsprodukten möglich.

Versuche: Pufferlösungen:

Die beiden Lösungen A und B werden so gemischt, daß eine durchgehende pH- Reihe entsteht.

Glycin I: pH 1,2 - 3,6

Lösung A: 0,1 Mol Glycin in 1 Liter 0,1 n NaCl- Lösung

Lösung B: 0,1 n HCl

Glycin II: pH 8,4 - 13

Lösung A: siehe Glycin I

Lösung B: 0,1 n NaOH

Essigsäure- Acetat- Puffer: pH 3,6 - 5,6

Lösung A: 0,2 m Essigsäure

Lösung B: 0,2 m Na- Acetat

Phosphatpuffer nach Sörensen: pH 6 - 8,5

Lösung A: 0,2 m  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

Lösung B: 0,2 m  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Weitere Reagenzien:

1 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$     2 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$     1 n NaOH

- a) Jeder Probe der pH- Reihe wird Cd aus der Stammlösung zugesetzt, so daß sich eine Konzentration von 200 ppm in der wässrigen Lösung ergibt ( Doppelbestimmungen ). 1 Teil Chloroform wird zu 2 Teilen der wässrigen Phase zugesetzt, anschließend Na- DEDTC in 10 fachem Überschuß zugegeben. Ausschütteln für 2 min auf einem mechanischen Rüttler. Nach der Phasentrennung wird die organische Phase abgetrennt und der Extraktionsvorgang wie oben beschrieben 1 mal wiederholt. Die organischen Extrakte werden vereinigt 1 : 1 mit Äthanol versetzt. Die gaschromatographische Auswertung erfolgt unmittelbar nach der Probenherstellung und erneut nach mehreren Stunden mit einem Gerät mit FID.
- b) Es wird eine ähnliche Reihe aufgestellt. Dabei wird eine Cd- Konzentration von 10 ppm im Wässrigen eingestellt. Die vereinigten Chloroformextrakte der Erst- und Zweitausschüttelung werden eingedampft und in Äthylacetat aufgenommen. Die Messung erfolgt mit einem N- FID nach Optimierung der gaschromatographischen Parameter ( s. S. 119 )
- c) Bei einer 200 ppm enthaltenden Probe in Essigsäure- Acetat Puffer pH 5 wird der nach zwei Extraktionsvorgängen übrig-

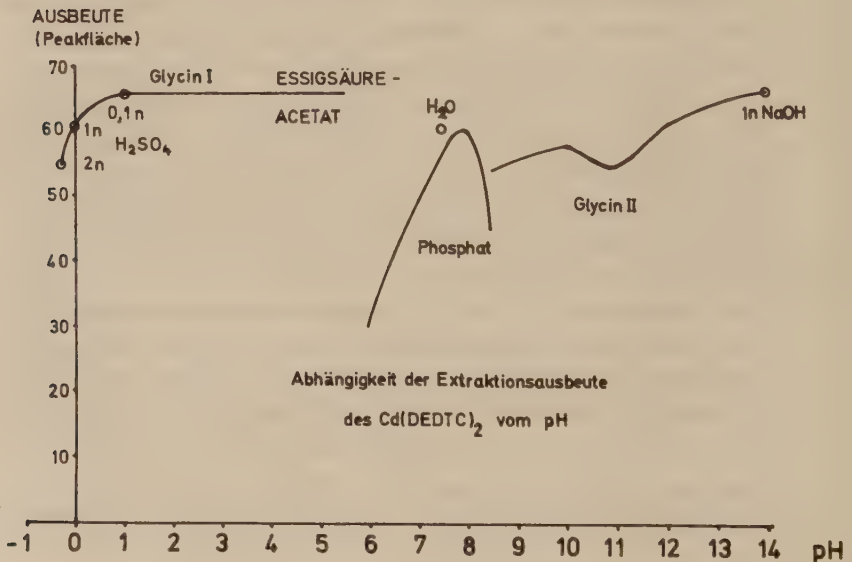
bleibende wässrige Überstand erneut mit Na- DEDTC versetzt und in  $\text{CHCl}_3$  ausgeschüttelt. Diese Probe wird eingedampft, in Äthylacetat aufgenommen und mit dem N- FID gaschromatographisch untersucht.

Ebenfalls eine Überprüfung der Vollständigkeit der Extraktion wird für eine 10 ppm Cd enthaltende Probe durchgeführt: Nach zweimaligem Ausschütteln ( pH 5 ) wird der wässrige Überstand im Vergleich mit einer Eichreihe und Leerproben aus Essigsäure- Acetat- Puffer mit einem Atomabsorptionsspektrometer gemessen.

### Ergebnisse:

- a) Abbildung 5 zeigt die Cd- Ausbeute bei einer Konzentration von 200 ppm in Abhängigkeit vom pH- Wert:

Abb. 5: pH- Abhängigkeit der  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Extraktion  
( bei 200 ppm Metall )



- Dabei ergibt sich von pH 1 bis pH 5,5 eine gleichmäßige Ausbeute, d. h. eine vollständige Extraktion.
  - Die maximale Ausbeute liegt für den Phosphatpuffer bei pH 8 bei ca. 91 %. Außerdem nimmt sie bei geringen Abweichungen von pH 8 nach oben oder unten stark ab. Nach Koch und Koch läßt sich die Störung der Extraktion bei Phosphatpuffern durch den Zusatz von Tartrat als Hilfskomplexbildner vollständig beheben (36 ).
  - Bei Extraktion aus einer pufferfreien Lösung, hergestellt aus demineralisiertem  $H_2O$ , ergibt sich eine Ausbeute von ca. 90 %; Extraktions- pH 7,5.
  - Im Bereich von pH 8,5 bis pH 14 ergibt die Messung sehr schlecht reproduzierbare, streuende Werte. In 1 n NaOH ist die Extraktion annähernd vollständig. Vermutlich sind die Schwankungen in diesem pH- Bereich auf das Fehlen eines Hilfskomplexbildners und somit auf eine Hydroxidfällung zurückzuführen.
  - Im Bereich von 2 n  $H_2SO_4$  bis pH 3 zeigt sich, daß sich die Cd- Komplexe nach ca. 20 Stunden schon teilweise bis zu 50 % zersetzt haben.
- b) Für die Probenreihe mit 10 ppm Cd ergibt sich eine entsprechende Ausbeute bei den verschiedenen pH- Werten. Dabei zeigt sich, daß die Zersetzung bei diesen 20 fach niedrigeren Konzentrationen vor allem im Säuren wesentlich schneller erfolgt.
- c) Die gaschromatographische Bestimmung aus dem wässrigen Überstand der 200 ppm enthaltenden Probe läßt nach zwei Vorextraktionen kein Cd mehr nachweisen. Es kann angenommen werden, daß bei pH 5 und der angewandten Komplexbildnermenge eine vollständige Extraktion des Cd erfolgt ist. Die Messung des wässrigen Überstandes der 10 ppm enthaltenden Probe ergibt im Vergleich mit einer Leerprobe aus Essigsäure- Acetatpuffer ebenfalls keinen erhöhten

Cd- Wert. Es kann also angenommen werden, daß auch in diesem Konzentrationsbereich bei pH 4 bis 5 eine vollständige Extraktion stattfindet.

### Diskussion:

Es wird bestätigt (36), daß grundsätzlich im Bereich von pH 2 bis 14 eine quantitative Extraktion erzielt werden kann. Jedoch ist zu beachten, daß:

- Im Alkalischen auf einen Hilfskomplexbildner, der eine Hydroxidfällung verhindert, nicht verzichtet werden kann.
- Phosphatpuffer nicht geeignet ist. ( Etwaige Störungen durch das Vorhandensein von Phosphaten in biologischem Material können jedoch durch Tartratzugabe beseitigt werden (36).
- Im Säuren unterhalb pH 3 mit einer verminderten Stabilität des Komplexes zu rechnen ist. Diese geringe Haltbarkeit wird vermutlich sowohl durch die schnelle Zersetzung des Na- DEDTC im Säuren, als auch durch die zunehmende Verschleppung von aggressiven Säurespuren in die organische Phase bei abnehmendem pH verursacht.

Daraus folgt, daß sich unter den untersuchten Puffern der Essigsäure- Acetatpuffer pH 4 - 5 als am brauchbarsten erweist. Er ermöglicht eine quantitative Extraktion bei ausreichender Stabilität. Eine Störung der Extraktion von Cd durch weitere untersuchte Metalle ( s. S. 84 ) wird in diesem pH- Bereich bei ausreichendem Komplexbildnerüberschuß nicht beobachtet.

### 1.2. Anzahl der Ausschüttelungen:

Problemstellung: Es stellt sich die Frage, ob die Ausbeute schon bei einmaligem Ausschütteln ausreichend ist, oder ob mehrmals extrahiert werden muß.

Versuche: Mehrere Proben einer 100 ppm enthaltenden wässrigen Cd- Lösung von pH 5 werden verschieden häufig mit Chloroform und Na- DEDTC extrahiert.

- a) 2 ml Cd- Lösung wird mit 2 ml  $\text{CHCl}_3$  versetzt und mit einem 10 fachen Komplexbildnerüberschuß ausgeschüttelt ( 2 min ). Nach Entfernung der organischen Phase wird der Vorgang noch ein 2. und 3. Mal wiederholt.
- b) 2 ml Cd- Lösung wird mit 1 ml  $\text{CHCl}_3$  versetzt und mit einem 5 fachen Komplexbildnerüberschuß extrahiert. Anschließend wird die Extraktion noch einmal wiederholt. Die Extrakte werden zusammengegeben.

Ergebnisse: Die drei Extrakte von a) werden einzeln gaschromatographisch gemessen. Im zweiten und dritten Extrakt läßt sich kein Cadmium nachweisen. Der Erstextrakt von a) und Probe b) enthalten annähernd die gleiche Cd- Menge.

Diskussion: Es genügt also schon ein einmaliges Ausschütteln, um zu einem befriedigenden quantitativen Ergebnis zu kommen. Aus Sicherheitsgründen ( z. B. Emulsionsbildung ) sollte man jedoch zweimal ausschütteln und die so gewonnenen Extrakte vereinigen.

### 1.3. Reaktionszeit, Schütteldauer und Phasentrennung:

Problemstellung: In einer Arbeit (11) wird darauf hingewiesen, daß bei Ausschüttelversuchen von Cd- Tetramethylen-dithiocarbamat mit Methylisobutylketon sich eine starke Abhängigkeit der Ausbeute von der Schütteldauer ergibt. Sie nimmt bei 10 minütigem Ausschütteln auf weniger als 10 % ab. Als Ursache wird die Zersetzung des Komplexes durch Wasserbestandteile angegeben. Ähnliche zu erwartende Phänomene gilt es auch für Na- DEDTC und  $\text{CHCl}_3$  und andere gebräuchliche Lösungsmittel zu untersuchen. Auch ist zu er-

warten, daß bei einer zu kurzen Schütteldauer die Extraktion ebenfalls nicht vollständig ist. Der Einfluß der Reaktionszeit auf die Ausbeute ist schlecht abzuschätzen, da die Komplexbildungsreaktion auch noch während des Ausschüttelns weiterläuft. Von Bedeutung für die Ausbeute und Stabilität ist weiterhin die Dauer und Vollständigkeit der Phasentrennung.

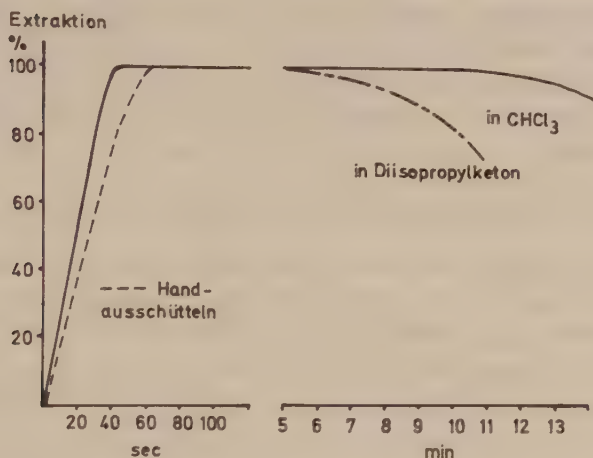
Versuche: Gegenübergestellt werden Handausschüttelung und mechanisches Ausschütteln. Der Überschuß an Komplexbildner ist ca. 20 fach. Es wird eine Reihe mehrerer Proben mit 2 ml Cd- Lösung ( 200 ppm, ph 5 ) in Reagenzgläsern mit Plastikstöpseln mit jeweils 2 ml  $\text{CHCl}_3$  versetzt. Gleich nach der Zugabe des Na- DEDTC wird mit dem Ausschütteln begonnen und die Zeit gemessen. Zusätzlich werden einige Proben direkt in 2 ml Diisopropylketon/ Xylol ( 70 : 30 ) extrahiert.

Ergebnisse: Bei Zusatz des Na- DEDTC tritt sofort eine milchigweiße Trübung der wässrigen Phase ein. Abbildung 6 zeigt die Ausbeute in Abhängigkeit von der Schütteldauer bei Verwendung eines mechanischen Rüttlers und bei Handausschüttelung.

#### Diskussion:

- Beim mechanischen Ausschütteln ist die Extraktion bereits nach 40 Sekunden vollständig. Nach 10 Minuten Schütteldauer nimmt die Ausbeute wieder langsam ab. Dies ist wohl durch Zerstörung der bereits extrahierten Komplexe durch suspendierte Wasser- oder Säurespuren während des Schüttelns bedingt. Außerdem ist ein Teil des zugesetzten Na- DEDTC ( ca. 75 % ) in der wässrigen Phase dann bereits zersetzt. Beides führt zur Verlagerung des Gleichgewichts in Richtung auf die wässrige Lösung.

Abb. 6: Extraktionsausbeute des  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  in Abhängigkeit von der Zeit



- Bei Diisopropylketon/ Xylol hat man ebenfalls nach weniger als einer Minute eine 100 % ige Ausbeute. Jedoch kommt es hier schon nach 5 Minuten Schütteldauer zur Verringerung der Extraktionsausbeute. Sie ist ähnlich wie beim  $\text{CHCl}_3$  durch Wasser- und Säurepartikel zu erklären. Diese können hier aufgrund der besseren Mischbarkeit mit  $\text{H}_2\text{O}$  ( Höhere Polaritätskonstante des Diisopropylketon ) schneller angreifen.
- Beim Handausschütteln muß man ungefähr  $1 \frac{1}{2}$  mal so lang schütteln, um zu einer vollständigen Extraktion zu gelangen. Jedoch kann man auch hier bei 2 Minuten Schütteldauer mit einem sicheren Ergebnis rechnen.
- Da die Komplexbildung sehr schnell erfolgt, kann man mit dem Ausschütteln sofort nach Na- DEDTC- Zusatz beginnen. Jedoch ist es von Nutzen, nach Zugabe des Komplexbildners kurz umzuschütteln, dann ca 30 Sekunden zu warten und an-

schließlich mit der Extraktion zu beginnen.

- Die Phasentrennung bei  $\text{CHCl}_3$  ist sehr gut. Schon wenige Sekunden nach Beendigung des Ausschüttelns ist die organische Phase wieder völlig klar. ( Zu Diisopropylketon siehe Seite 81 ) Trotzdem ist es auch bei  $\text{CHCl}_3$  ratsam, die Proben nach der Extraktion ungefähr 1 Minute stehenzulassen.

#### 1.4. Mengenverhältnis von Na- DEDTC zu Cadmium:

Problemstellung: Entscheidenden Einfluß auf die Ausbeute des Cadmiums hat die Menge des zugesetzten Komplexbildners. Setzt man einer wässrigen Lösung soviel Komplexbildner zu, daß auf 1 Grammatom  $\text{Cd}^{2+}$  2 Mol Na- DEDTC kommen, so kann im Idealfall alles Cd komplexiert werden. Zu berücksichtigen sind bei der Gleichgewichtseinstellung jedoch in erster Linie zwei Störfaktoren: Der Komplexbildner zersetzt sich, wie gezeigt, verhältnismäßig rasch. In der zu untersuchenden Lösung finden sich meist andere Metalle, die auch Komplexe bilden. Oft können sie Cd sogar aus seinem Komplex verdrängen.

Um eine Dissoziation des Metallkomplexes zu verhindern, muß ein ausreichender Ligandenüberschuß vorhanden sein (47). Er soll nach Literaturangaben mindestens 10 fach sein (31).

Versuch: Extraktion von Cadmium aus wässriger Pufferlösung von pH 5 mit jeweils 2, 10, 20, 100 fachem stöchiometrischem Überschuß an Na- DEDTC. Schütteldauer 2 min.; Es wird zweimal in  $\text{CHCl}_3$  extrahiert, und die Extrakte gemischt. Lösung: 100 ppm Cd.

Ergebnis: Bei sofortigem Ausschütteln ergibt sich für alle Proben die gleiche Ausbeute. Läßt man die Proben aber vor dem Ausschütteln 1 min. stehen, verringert sich die Ausbeute

bei 2 fachem Überschuß auf ca. 70 % , bei 10, 20 und 100 fachem Überschuß bleibt sie gleich.

Diskussion: Für Arbeiten mit wässrigen Eichlösungen beispielsweise ist ein 10 facher Reagensüberschuß ausreichend. Probleme ergeben sich bei Proben mit mehreren Metallen vorher nicht bekannter Konzentration. Hier ist ebenfalls überschlagsmäßig ein mindestens 10 bis 20 facher Überschuß anzustreben. Ein negativer Einfluß auch sehr hoher DEDTC-Überschüsse auf die Qualität der Chromatogramme ist nicht feststellbar.

#### 1.5. Untersuchung verschiedener organischer Lösungsmittel:

Problemstellung: Die nach Koch und Koch (36) besonders gut zur Extraktion von DEDTC- Komplexen geeigneten Chlorkohlenwasserstoffe haben einen gravierenden Nachteil für die Gaschromatographie:

- Sie können bei Verwendung eines Flammenionisationsdetektors nur bedingt angewandt werden, da sie zu einem Erlöschen der  $H_2$ - Luftflamme führen.
- Bei empfindlicheren, auf N- Verbindungen ansprechenden Detektoren, die mit einem Kristall betrieben werden, können sie nicht angewandt werden, da sie zu einer Zerstörung des Kristalls führen.

Es muß also ein anderes organisches Lösungsmittel angewandt werden, das neben guten Extraktionseigenschaften auch zur Chromatographie geeignet ist. Zur Auswahl stehen: Höhere Alkohole, Ester, Äther, Ketone, Aromatische Verbindungen.

Wichtig für die Anwendbarkeit sind:

- Das Dipolmoment und damit die Entmischbarkeit von organischer und wässriger Phase.

- Die Löslichkeit des Komplexes im organischen Extrakt, d. h. das Verteilungsverhalten des Chelats.

Man kann den Komplex unmittelbar mit dem Lösungsmittel ausschütteln, das zur Gaschromatographie verwandt wird, oder ihn nach dem Ausschütteln eindampfen und ihn anschließend mit einem anderen geeigneten Lösungsmittel aufnehmen. Die zweite Methode erlaubt es auch, Konzentrierungen in der organischen Phase vorzunehmen.

Versuche: Untersucht werden folgende Lösungsmittel:

Diisopropylketon/ Xylol, Methylisobutylketon, n- Butanol, Toluol, Äthylacetat/ Äther.

Reines Chloroform ist für die Messungen mit einem FID nicht geeignet. Dagegen ist ein Gemisch aus  $\text{CHCl}_3$  / Äthanol gut zu verwenden ( 50 : 50 ).

Diisopropylketon/ Xylol, Methylisobutylketon und Äthylacetat werden sowohl zum Direktausschütteln verwendet, als auch zum Aufnehmen von eingedampften  $\text{CHCl}_3$ - Extrakten.

Die Versuche werden sowohl für höhere ( 200 ppm ) als auch für niedrigere ( 40 ppm ) Cd- Konzentrationen durchgeführt. pH 5; Zweifachextraktion; Schütteldauer 2 min.; Außerdem wird in diesem Fall nach dem Ausschütteln jeweils mindestens 5 min. zur Phasentrennung gewartet.

#### Ergebnisse und Diskussion:

##### a) Diisopropylketon:

Es wird in einer Arbeit von Dornemann und Mitarbeitern (11) als vorteilhaft erwähnt, da es eine ausreichende Phasentrennung ergibt. Folgendes zeigt sich:

- Für höhere Konzentrationen ist beim Direktausschütteln wie beim Aufnehmen eines  $\text{CHCl}_3$ - Extraktes die Ausbeute gleich gut wie bei einem  $\text{CHCl}_3$ - Extrakt.
- Die Phasentrennung erfolgt wesentlich langsamer als beim

Chloroform ( 1 bis 2 min. bis zur opt. Aufklärung beider Phasen ).

- Die gaschromatographischen Lösungsmittelpeaks sind bei gleich großen Cd- Komplexpeaks wesentlich größer als beim  $\text{CHCl}_3$  / Äthanolgemisch oder als beim Äthylacetat. Dies trifft sowohl für den FID als auch den N- FID zu und macht sich bei niedrigen Cd- Konzentrationen besonders störend bemerkbar. Zum Vergleich siehe Abbildung 18.
- Besonders bei niedrigen Konzentrationen um 50 ppm und darunter zeigt sich immer wieder, daß die Komplexe nur eine sehr geringe Haltbarkeit aufweisen. Die Ursachen hierfür sind im Abschnitt über die Stabilität der Komplexe ( Seite 48 und folgende ) zu diskutieren. Zu denken ist an eine Verschleppung von wässrigen Spuren in die organische Phase, die dann zur schnellen Zersetzung der Komplexe führen, sowie an Wandeffekte, die zur Adsorption der Komplexe an Glas führen und sich natürlich bei niedrigen Konzentrationen besonders stark auswirken.

#### b) Methylisobutylketon ( MIBK ):

Es wird in vielen Arbeitsanleitungen zur AAS- Messung als Lösungsmittel für verschiedene Dithiocarbamate empfohlen (20). Jedoch zeigt sich:

- MIBK führt zu einer extrem schlechten Phasentrennung. Auch nach Zentrifugation sind die beiden Phasen nicht optisch klar. Außerdem findet eine deutliche Zunahme des Volumens der wässrigen Phase auf Kosten der organischen statt. Dornemann gibt beispielsweise an, daß bei seinen Ausschüttelversuchen 20 % Verluste der MIBK- Phase aufgetreten sind.
- Bei Injektion von reinem MIBK in eine 5 % ige OV 101- Säule kommt es sofort zu einer Verschmutzung des Detektors. MIBK greift die flüssige Phase des Säulenmaterials an. Außerdem ist anzunehmen, daß die Haltbarkeit der  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Komple-

xe in diesem Lösungsmittel nicht sehr gut ist.

c) Höhere Alkohole, hier n- Butanol:

- Bei niedrigen Konzentrationen unter 50 ppm reicht das Lösungsvermögen aus, um den kristallisierten Komplex vollständig aufzulösen, und auch die Chromatographiereigenschaften sind nicht schlechter als beim Diisopropylketon.
- Bei Konzentrationen über 100 ppm löst sich der eingedampfte Komplex nur unvollständig auf. Bei 200 ppm liegt die Ausbeute bei unter 50 %.

d) Aromatische Verbindungen, Hier Toluol:

- Bei niedrigen Konzentrationen ( unter 50 ppm ) ausreichende Löslichkeit und gute Chromatographiereigenschaften. Deshalb wird es z. B. von Neeb und Mitarbeitern verwendet (66).
- Bei Konzentrationen über 50 bis 100 ppm ist das Lösungsvermögen ebenfalls unzureichend.

e) Äthylacetat:

Es wird in der Literatur als gutes Extraktionsmittel für DEDTC- Komplexe bezeichnet (36). Hier wird auch ein Gemisch von Äthylacetat / Diäthyläther 50 : 50 untersucht.

Ergebnisse der Direktextraktion:

- Die Phasentrennung erfolgt bei Äthylacetat oder seinem Äthergemisch schnell. Voraussetzung ist allerdings, daß das Verhältnis von organischer zu wässriger Phase ungefähr gleich ist. Bei einem großen Überschuß an wässriger Phase ( 20 : 1, 10 : 1 ) ergeben sich deutliche Verluste an Äthylacetat, ca. 10 %.
- Die Ausbeute der Metallkomplexe bei höheren Konzentrationen ist gut. sie entspricht der bei Chloroform und Diisopropylketon.
- Bei niedrigeren Konzentrationen unter 50 ppm ist die Extraktion ebenfalls vollständig, wie der Vergleich zu in Äthyl-

acetat aufgenommenen Chloroformextrakten zeigt. Jedoch ist die Stabilität der Komplexe nicht befriedigend, obwohl sie besser als bei Diisopropylketonextrakten ist. Die schnelle Abnahme der gemessenen Konzentrationen nach einigen Stunden ist nicht ausschließlich auf Wandeffekte zurückzuführen. Denn die Verluste treten beim Aufnehmen eines eingedampften Komplexes in Äthylacetat nicht so schnell auf. Es ist also die zersetzende Wirkung von gelösten wässrigen Bestandteilen zu berücksichtigen.

#### Ergebnisse bei eingedampften Extrakten:

- Das Lösungsvermögen ist sehr gut. Erst über 300 - 400 ppm Cd-Konzentration kommt es nicht mehr zur vollständigen Auflösung in Äthylacetat, und die Ausbeute nimmt ab.
- Bei niedrigen Konzentrationen ist die Ausbeute ebenso hoch wie beim Direktextrakt, wobei die Haltbarkeit jedoch, wie erwähnt, besser ist.
- Die chromatographischen Eigenschaften von Äthylacetat sind, wie auf Seite 81 gezeigt, sehr gut.
- Das Äthylacetat-Äthergemisch verhält sich ebenso wie Äthylacetat allein. Es führt aber wegen der hohen Flüchtigkeit von Diäthyläther zu unerwünschten Konzentrationseffekten bei der Aufbewahrung und bei der Injektion in den Gaschromatographen.

#### Zusammenfassung:

- Diisopropylketon ist vor allem wegen des störenden breiten Lösungsmittelpeaks und der geringen Haltbarkeit der Proben unterhalb 50 ppm Cd nur bedingt geeignet. Aber es kann, wie später gezeigt, für Hexamethylenammonium-Hexamethyldithiocarbamat verwendet werden (s. S. 57).
- Methylisobutylketon ist völlig ungeeignet, da es zur schnell-

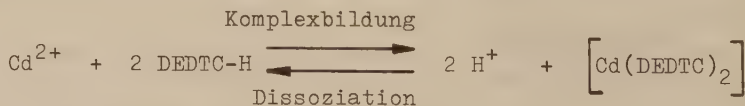
len Zerstörung der Säule führt.

- n- Butanol ist wegen des schlechten Lösungsvermögens nicht geeignet.
- Aromatische Verbindungen sind ebenfalls wegen ihres geringen Lösungsvermögens nicht brauchbar.
- Äthylacetat ist von den untersuchten Lösungsmitteln wohl am besten geeignet. Es führt weder bei FID, noch bei N- FID zu Störungen.
- Am vorteilhaftesten in Hinblick auf die Haltbarkeit der Proben ist die Extraktion mit Chloroform und anschließendem Eindampfen und Auflösen in Äthylacetat.

#### 1.6. Stabilitätsmessung für verschiedene Cadmiumkonzentrationen bei pH 5:

Problemstellung: Bildung, Extraktion, Dissoziation und Zersetzung der Chelatkomplexe unterliegen Gleichgewichtsreaktionen nach dem Massenwirkungsgesetz. Nachdem über Bildung und Extraktion im Vorhergehenden gesprochen worden ist, seien hier Vorgänge, die die Haltbarkeit der Komplexe beeinflussen, erwähnt:

a) Dissoziation des Komplexes im organischen Lösungsmittel. Sie erfolgt in Umkehrung der Komplexbildung nach der Reaktion:



Um die Dissoziation des Komplexes möglichst gering zu halten, muß ein ausreichender Überschuß an freiem Komplexbildner in der organischen Phase vorhanden sein ( DEDTC- H ). Da der freie Komplexbildner jedoch einer Zersetzung unterliegt, verlagert sich das Gleichgewicht in Richtung auf das  $\text{Cd}^{2+}$ - Ion.

b) Zersetzung des Komplexbildners durch äußere Einflüsse:  
z. B. durch verschleppte Säurespuren aus der wässrigen Phase, durch thermische Einwirkungen, durch Lichtwirkung; Nach Koch und Koch (36) werden hauptsächlich chemische Einflüsse wirksam. Der Zerfall des Komplexbildners in wässrigen Medien läuft folgendermaßen ab:



Ein Wasserstoffion spaltet das DEDTC in Schwefelkohlenstoff und Diäthylamin (36). Tavlaridis diskutiert in einer Arbeit (47) zwei verschiedene Angriffsmechanismen. Einmal am N-Atom, zweitens an einem der S-Atome. Es ist anzunehmen, daß der beschriebene Zersetzungsmechanismus ebenso im organischen Lösungsmittel stattfindet, insbesondere wenn es aufgrund höherer Polarität zu einer unvollständigen Entmischung beider Phasen kommt. Möglicherweise wird auch der vollständige Komplex  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  ähnlich wie sein Komplexbildner von  $\text{H}^+$ -Ionen angegriffen. Die massenspektrometrische Untersuchung des Cd-Komplexes (siehe Seite 61) zeigt das Auftreten derartiger Verbindungen. Wie erwähnt, ist die Zerfallsgeschwindigkeit der  $\text{H}^+$ -Ionenkonzentration direkt proportional, d. h. hier abhängig von der Menge an Säurespuren im organischen Lösungsmittel.

Temperaturerhöhungen haben keinen großen Einfluß auf die Haltbarkeit des Komplexes. Denn DEDTC-Chelate sind sehr hitzestabil, wie die erwähnten thermographischen Untersuchungen gezeigt haben.

Lichteinwirkung: Koch und Koch weisen darauf hin, daß beispielsweise der  $\text{Cu}(\text{DEDTC})_2$ -Komplex sehr lichtunbeständig ist (36). Er zersetzt sich im Sonnenlicht innerhalb weniger Minuten vollständig. Über die Lichtbeständigkeit des  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ -Komplexes machen sie keine Angaben.

c) Grenzflächenreaktionen: Diese Adsorptionseffekte sind für freie Kationen vielfach untersucht worden (36, 60). Über das Verhalten von verschiedenen Metalldithiocarbamaten gibt es nur wenige Angaben. Nicht nur Adsorption an Glasgefäßwänden ist in Erwägung zu ziehen, sondern auch Zersetzung der Komplexe durch aggressive Substanzen der Wände (60).

Diese möglichen Ursachen geringer Haltbarkeit müssen gegeneinander abgegrenzt werden.

Versuche und Ergebnisse: Dargestellt werden soll die Haltbarkeit der Proben in Abhängigkeit von der Metallkonzentration, außerdem vom Lösungsmittel ( hier Diisopropylketon vgl. mit Chloroform ), vom pH und vom Komplexbildnerüberschuß:

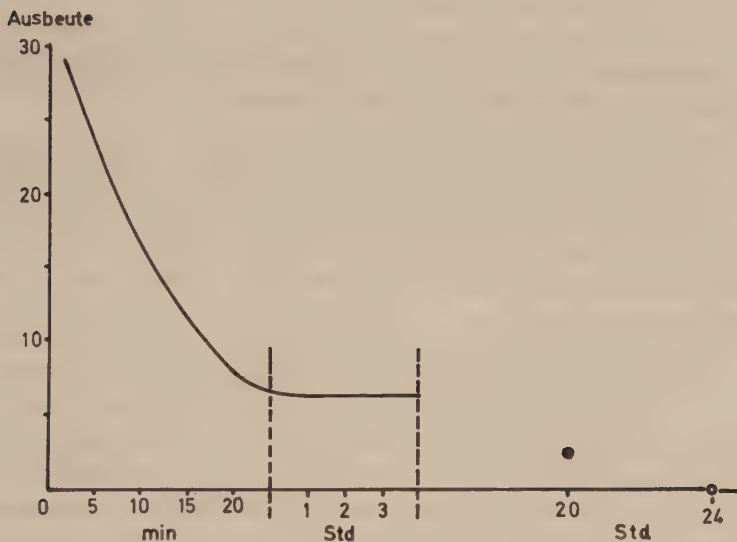
a) Sehr hohe Konzentrationen (1000 ppm ):

- Direktextrakt einer 1000 ppm Cd enthaltenden Probe in Diisopropylketon: Halbwertszeit der Zersetzung  $t_{1/2}$ : ca. 35 min. Nach 2 Stunden sind noch ca. 5 % des Ausgangswertes nachweisbar.
- Chloroformextrakte gleicher Konzentration, die in Diisopropylketon aufgenommen werden, bleiben über mehrere Tage bis Wochen stabil.

b) Mittlere Konzentrationen ( 40 ppm ):

- Eingedampfter Chloroformextrakt in Diisopropylketon: Abbildung 7 zeigt die Zeitabhängigkeit der Konzentration. Halbwertszeit  $t_{1/2}$ : ca. 14 min. Nach 20 min. sind noch ca. 25 % des Ausgangswertes meßbar. Dieser Wert bleibt nun für mehrere Stunden konstant. Nach 24 Stunden ist kein Cadmium mehr nachweisbar.

Abb. 7: Zeitabhängigkeit der Ausbeute nach Auflösen von 40 ppm Cd als DEDTC- Komplex in Diisopropylketon.



- Direktextrakt in Diisopropylketon:

Die Halbwertszeit ist noch kürzer.  $t_{1/2}$ : ca. 10 min.

Nach 40 min ist kein Cd mehr nachzuweisen.

c) Niedrige Konzentrationen ( 10 ppm; 2 ppm ):

- Eingedampfter Chloroformextrakt in Diisopropylketon ( 10 ppm ): Halbwertszeit  $t_{1/2}$ : ca. 6,5 min. 20 min nach der Erstmessung ist kein Cd mehr nachweisbar. Untersuchungen mehrerer Proben im pH- Bereich 3 - 7,5 zeigen, daß die Haltbarkeit durch den pH nicht beeinflusst wird. Auch die Verwendung höherer Komplexbildnermengen steigert die Haltbarkeit nicht wesentlich.
- Direktextrakt in Diisopropylketon ( 10 ppm ): Halbwertszeit  $t_{1/2}$ : ca. 3,5 min.

- Eingedampfter Chloroformextrakt in Diisopropylketon  
( 2 ppm ): Halbwertszeit  $t_{1/2}$ : ca. 4 min. Nach 15 min.  
ist kein Cd mehr nachweisbar.

Diskussion: Die Stabilität und die Zerfallshalbwertszeit sind deutlich konzentrationsabhängig:

a) Hohe Konzentrationen: Im Direktextrakt zeigt sich, daß die Hauptursache für die schnelle Zersetzung verschleppte Wasser- und Säurespuren sein müssen. Denn sowohl direkt mit dem FID gemessene Chloroformextrakte, als auch in Diisopropylketon aufgenommene weisen eine wesentlich höhere Stabilität auf.

b) Mittlere Konzentrationen: Auch hier spielt die Säurezerersetzung eine große Rolle, wie der Vergleich von Direktextrakt mit eingedampftem Extrakt zeigt. Im Direktextrakt ist ein Cd-Nachweis praktisch nur direkt nach der Probenherstellung möglich. Jedoch läßt die Tatsache, daß beim Eindampfextrakt nach wenigen Minuten nur noch 25 % nachweisbar sind, dieser Wert jedoch über Stunden konstant bleibt, darauf schließen, daß hier zwei Ursachen wirken. Die restlichen 75 % , also etwa 30 ppm werden innerhalb weniger Minuten an die Gefäßwand adsorbiert. Dies entspricht einer Adsorptionskapazität von ca.  $25 \mu\text{g} / \text{cm}^2$  Glasfläche. Nach einigen Stunden kommt es dann zu einer Zersetzung des im Diisopropylketon gelösten Komplexes. Bei einer reinen Säurezerersetzung würde man hingegen eine stetig ablaufende Reaktion 1. Ordnung erwarten.

c) Niedrige Konzentrationen: Hier ergibt sich eine extrem schlechte Haltbarkeit. Mögliche Ursachen:

- Säurezerersetzung spielt beim Direktextrakt eine große Rolle, wie der Vergleich zum eingedampften Extrakt zeigt.
- Adsorption der gesamten gebildeten Komplexe, da die Adsorptionskapazität der Gefäßwand nicht überschritten wird.

- Unzulänglichkeiten des gaschromatographischen Nachweises ( siehe Seite 80 ).

Zusammenfassend gilt: Eine Direktextraktion mit Diisopropylketon ist wegen der Säurezersetzung völlig ungeeignet. Für die ebenfalls geringe Haltbarkeit eingedampfter Extrakte könnte auch eine Verunreinigung oder Aggressivität des Lösungsmittels Diisopropylketon verantwortlich sein. Dagegen spricht aber, daß eingedampfte Chloroformextrakte höherer Konzentration an Cadmium verhältnismäßig stabil sind.

Für das Auftreten von Grenzflächenreaktionen sprechen auch die schon zitierten Untersuchungen von Shendrikar und Mitarbeitern (60). Sie untersuchten die Adsorptionscharakteristik verschiedener Metalle in wässrigen Lösungen verschiedener pH- Werte und auch als APDC- Komplexe in MIBK an einigen Gefäßmaterialien. Für alle Messungen wählten sie eine Konzentration von 1 ppm Metall. Die wässrigen Lösungen erwiesen sich als ausreichend stabil. Bei den APDC- Komplexen zeigten sich jedoch Störungen, besonders bei Cd und Zn. Cadmiumproben im gleichen Lösungsmittel wiesen nach 1 Tag Aufbewahrung in verschiedenen Gefäßen folgende Verluste auf:

Pyrexglas: 11,7 %; Flintglas: 44,6 %; Polyäthylen: 15,8 %;

Nach 12 Tagen:

Pyrexglas: 52,8 %; Flintglas: 95 %; Polyäthylen: 31,8 %;

Es handelt sich also offensichtlich um Adsorptionseffekte. Shendrikar und Mitarbeiter sind aber der Meinung, daß bei APDC ebenfalls eine Zersetzung mit nachfolgender Hydroxidfällung stattfindet. Man muß also Meßwerte, die in vielen Arbeiten mit APDC und AAS- Messung aus biologischem Material gewonnen wurden, kritisch betrachten.

Für das DEDTC- Diisopropylketonsystem bestätigt sich die Bedeutung von Grenzflächenreaktionen, die die Chromatographie

schon unterhalb 50 ppm Cd- Metall erheblich stören. Es muß also ein Lösungsmittel mit besseren Eigenschaften wie das schon erwähnte Äthylacetat verwendet werden.

### 1.7. Maßnahmen zur Verbesserung der Stabilität:

Problemstellung: Zur Vermeidung von Adsorptionseffekten anwendbare Maßnahmen sind:

- Verwendung eines Lösungsmittels mit geringerer Grenzflächenaktivität.
- Verwendung anderer Gefäßmaterialien, z. B. Kunststoffe.
- Beschichtung der Glasoberfläche zur Inaktivierung.

Weitere allgemeine Maßnahmen sind Kühlung und Lichtabschluß der Proben.

Versuche: Gegenübergestellt werden folgende Gefäßmaterialien: Normalglas, Silanisiertes Glas, Polyäthylen.

Vorgehen beim Silanisieren:

Die Gefäße werden mit einer Dimethylchlorsilan ( DMCS )-Lösung ( wie zum Silanisieren von Chromatographiersäulen ) gefüllt, so daß die Oberflächen vollständig benetzt sind. Die Lösung soll mindestens 1 min einwirken. Nach Entfernen des Überschusses wird mit Toluol, anschließend mit Methanol gespült und getrocknet.

Chloroformextrakte von Lösungen mit 50, 10, 2 ppm Cd bei pH 5 werden hergestellt. Sie werden in Äthylacetat aufgenommen. Außerdem werden Direktextrakte mit Äthylacetat hergestellt.

### Ergebnisse:

Für 50 ppm:

- Eingedampfter Chloroformextrakt in Normalglas: Die Stabilität der Komplexe ist wesentlich besser als in Diisopro-

pylketon. Auch nach 24 Stunden sind nur geringe Verluste aufgetreten.

- Direktextrakt: Er ist weniger stabil. Nach 24 Stunden noch ca. 60 %.
- Durch Silanisierung sämtlicher für die Probenherstellung verwendeter Gefäße läßt sich die Ausbeute eines eingedampften Extraktes um 5 % steigern.
- Polyäthylengefäße: Steigerung ebenfalls um 5 %.

Für 10 ppm:

- Auch hier ist die Stabilität in Normalglas wesentlich besser als für Diisopropylketon.
- Durch Silanisierung läßt sich die Ausbeute auf das 1 1/2 Fache steigern. Bei Kühschränklagerung zeigt sich im Rahmen der Meßgenauigkeit innerhalb einer Woche keine Abnahme der Probenkonzentration. Bei Raumtemperatur und Lichtabschluß eine Abnahme um ca. 25 %. Bei Raumtemperatur und Lichteinwirkung um 55 %.
- Polyäthylengefäße steigern die Ausbeute ebenfalls um 50 %. Bei Verwendung von Chloroform kommt es jedoch zum Auftreten von Störpeaks. Vermutlich löst es Weichmachersubstanzen aus dem Kunststoff.

Für 2 ppm:

- Die Silanisierung bringt eine Verbesserung auf das 3 Fache, bezogen auf die Probe in Normalglas.

Diskussion: Es kann gezeigt werden, daß die Verluste an Cd( DEDTC )<sub>2</sub> tatsächlich zu einem großen Teil auf Grenzflächenreaktionen beruhen. Über deren Mechanismus kann jedoch nichts ausgesagt werden. Daß aber auch Verschleppung von Säurespuren die Haltbarkeit der Proben beeinflussen kann, zeigt der Vergleich von Direkt- und eingedampften Extrakten. Jedoch

ist Äthylacetat wesentlich besser geeignet als Diisopropylketon. Eine geeignete Maßnahme zur Herstellung stabiler Proben ist die Silanisierung der Reagenz- und der Aufbewahrungsgläser. Außerdem sollten alle Proben mit Chloroform extrahiert und anschließend mit Äthylacetat aufgenommen werden, um eine gute Haltbarkeit zu erzielen. Von Vorteil ist auch, wie gezeigt, die Kühschränklagerung. Der Nutzen der Silanisierung zeigt sich bereits makroskopisch beim Eindampfen von Extrakten. Während im Normalglas die Kristalle über den ganzen Gefäßboden verteilt sind, sammeln sie sich im silanisierten Glas an einer Stelle und gehen keine Haftung mit der Wand ein.

Einen zusammenfassenden Überblick über Lösungsmiteleeigenschaften und Adsorptionseffekte bzw. deren Verringerung gibt die folgende Tabelle:

| <u>Lösungsmittel:</u>                          | Diisopropylketon | MIBK  | Äthylacetat | CHCl <sub>3</sub> | Toluol |
|------------------------------------------------|------------------|-------|-------------|-------------------|--------|
| Phasentrennung: (+)<br>( Polarität )           | (+)              | -     | +           | ++                | ++     |
| Lösungsvermögen f.<br>Cd(DEDTC) <sub>2</sub> : | +                | (+)   | ++          | ++                | -      |
| Stabilität des Komplexes:                      | (+)              | -     | +           | ++                | (+)    |
| Eignung f. d. Gaschromatographie:              | (+)              | -     | ++          | (+)               | (+)    |
| Flüchtigkeit,<br>Siedepkt. (°C):               | 123,7            | 101,7 | 77,1        | 61,2              | 110,8  |

|                                                                             | Diisopropylketon | MIBK | Äthylacetat | CHCl <sub>3</sub> | Toluol |
|-----------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-------------|-------------------|--------|
| Empfindlichkeit gegenüber Wandeffekten:                                     | ++               | ++   | +           | (+)               | /      |
| Stabilität der Komplexe nach Verringerung der Grenzflächenwirkung ( DMCS ): | +                | -    | ++          | ++                | /      |

#### 1.8. Verwendung anderer Komplexbildner:

Die vorliegende Arbeit beschränkt sich im Wesentlichen auf das Na- DEDTC, das bei den verwendeten Säulenmaterialien und Detektoren gut geeignet erscheint. Es wird jedoch ein weiteres Dithiocarbamat, das sehr gute Extraktionseigenschaften aufweist, das Hexamethylenammonium- Hexamethyldithiocarbamidat ( HMA- HMDTC ) auf seine Eignung zur Gaschromatographie untersucht (11, 12).

Versuche: Die Ansätze erfolgen nach den Vorschriften von Dornemann und Kleist (12). Die wässrigen Cd- Lösungen werden auf einen pH von 4 eingestellt. HMA- HMDTC wird als Fertigprodukt ( Fa. Merck ) verwendet.

HMA- HMDTC- Lösung: 0,2 m in Methanol

HMA- HMDTC- Extraktionslösung: 0,025 m in Diisopropylketon/  
Xylol 70 : 30

Die Proben werden mit der HMA- HMDTC- Lösung versetzt, kurz geschüttelt, für 5 min. stehengelassen, dann mit Extraktionslösung versetzt und ca. 3 min. ausgeschüttelt. Es genügt ein-

malige Extraktion. Komplexbildnerüberschuß: 10 fach.

a) Proben höherer Konzentration ( 100 ppm Cd ):

Aus der gleichen wässrigen Probelösung werden hergestellt:

- Herkömmliche Probe mit Na- DEDTC in Äthylacetat.
- Probe mit HMA- HMDTC in Diisopropylketon / Xylol.
- Probe mit HMA- HMDTC in Chloroform extrahiert und mit Äthanol versetzt.

Diese Proben werden mit einem FID gemessen.

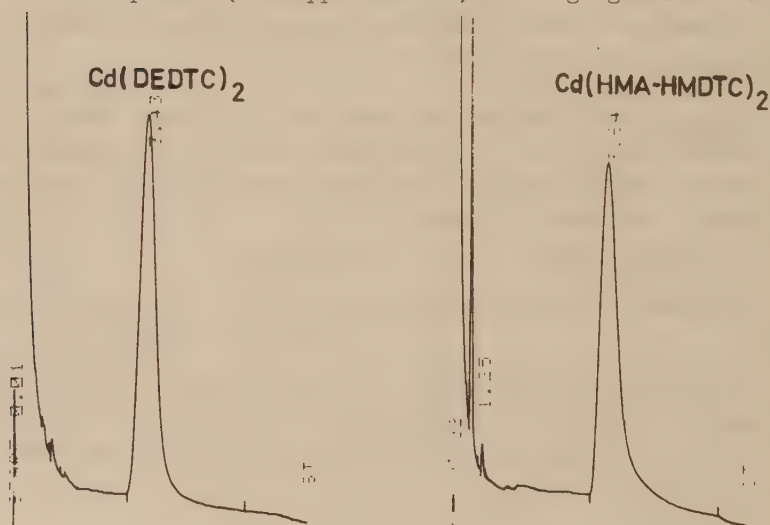
b) Proben niedrigerer Konzentration ( 1 ppm ):

- Herkömmliche Probe mit Na- DEDTC in Äthylacetat.
- Probe mit HMA- HMDTC in Diisopropylketon / Xylol.

Ergebnisse: Säule 5 % OV 101, Temperatur 250°C; Flow: 20 ml/min

a) HMA- HMDTC- Komplexe lassen sich gaschromatographisch darstellen. Abbildung 8 zeigt die Chromatogramme für DEDTC und HMA- HMDTC bei 100 ppm Cd- Metall.

Abb. 8: Chromatogramme von  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  und  $\text{Cd}(\text{HMA-HMDTC})_2$ -Komplexen ( 100 ppm Metall ). Bedingungen siehe oben:

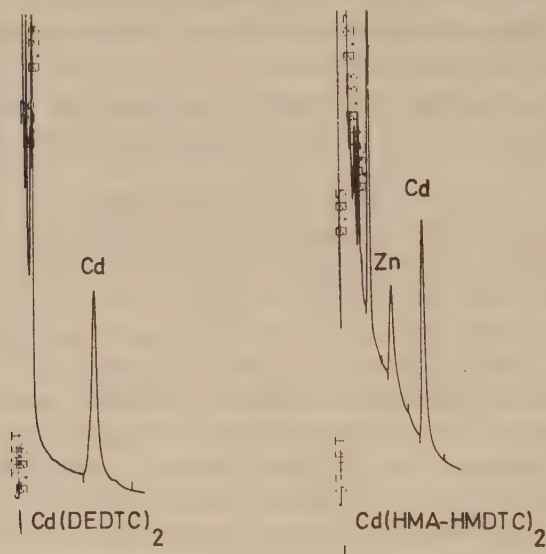


- Die Retentionszeit des HMA- HMDTC- Komplexes ist bei gleichen Chromatographierbedingungen etwas länger als die des DEDTC- Komplexes ( 3,65 min zu 3,40 min ).
- Beide Proben ergeben eine annähernd gleiche Peakfläche bei vollständiger Extraktion.
- Bei Extraktion des HMA- HMDTC- Komplexes mit Chloroform läßt sich keinerlei Cd gaschromatographisch nachweisen.

b) Auch bei 1 ppm Cd kann ein stabiler HMA- HMDTC- Komplex nachgewiesen werden. Im Vergleich zum DEDTC- Komplex zeigt sich jedoch, daß mit dem N- FID sehr viele störende Peaks auftreten. Diese sind teilweise bedingt durch das Lösungsmittel selbst, andererseits auch als Zerfallsprodukte des Komplexbildners ( Amine ) zu deuten. In der Haltbarkeit erweist sich der HMA- HMDTC- Komplex dem DEDTC gegenüber als überlegen. Bei ihm kommt es auch bei Verwendung unsilanisierter Glasgefäße nur in sehr geringem Ausmaß zu Adsorptionseffekten. Auch die Ausbeute an Zinkspuren, die bei DEDTC erst bei Verwendung einer Quarzglassäule auftreten, ist bei HMA- HMDTC wesentlich größer, wie die Abbildung 9 der 1 ppm- Proben zeigt.

Diskussion: Grundsätzlich ist HMA- HMDTC zur Komplexchromatographie von Cadmium geeignet, v. a. wegen der problemlosen Extraktion und der guten Haltbarkeit. Auch ist die Anfälligkeit dieses Chelatsystems gegenüber Grenzflächenreaktionen wesentlich geringer als die des DEDTC. Wegen des Auftretens von störenden Peaks ( Breiter Lösungsmittelpeak des Diisopropylketon, aber auch freies HMA- HMDTC oder dessen Zerfallsprodukte ) scheint es aber auf dem verwendeten Säulenmaterial weniger gut als das DEDTC geeignet zu sein. Bei Verwendung eines anderen Säulenmaterials oder etwa zur Hochdruckflüssigkeitschromatographie ( HPLC ) ist jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit zu erwarten, daß das HMA- HMDTC ebenfalls zur Multielementspurenanalyse geeignet sein wird.

Abb. 9: Chromatogramme von  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  und  $\text{Cd}(\text{HMA-HMDTC})_2$ -Komplexen ( 1 ppm Metall ). Detektor: N- FID. Sonstige Bedingungen wie bei Abbildung 8:



## VI. 2. Gaschromatographie des $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Komplexes:

Allgemeines: Die prinzipielle gaschromatographische Darstellbarkeit des Cd- Komplexes aus DEDTC ist von verschiedenen Autoren nachgewiesen worden (8, 66).

Deren Arbeiten geben Aufschluß darüber, wie vorzugehen ist, um zu einem günstigen Ausgangspunkt für den gaschromatographischen Teil der Komplexanalytik zu gelangen. Von entscheidender Bedeutung ist ein geeignetes Säulenmaterial.

Neeb und Mitarbeiter verwenden hauptsächlich Methylsilikone wie SE 30 als flüssige Phase (66, 67). Cardwell und Désarro empfehlen OV 101, ein Methylsilikon mit niedrigerem Molekulargewicht. Von Bedeutung sind auch die verhältnismäßig ho-

hen Säulentemperaturen. Sie sind im Interesse einer guten Verflüchtigung und zur ausreichend schnellen Elution der Substanzen notwendig. Ansonsten wird in der Literatur auf die allgemein in der Gaschromatographie üblichen Methoden verwiesen.

Hier sollen die verschiedenen, die gaschromatographische Darstellung des Cd- Chelatkomplexes beeinflussenden Faktoren untersucht und eine Optimierung des Cd- Nachweises angestrebt werden; zunächst wird jedoch eine qualitative Untersuchung des Cd- Chelats mit dem Massenspektrometer durchgeführt.

## 2.1. Qualitativer Nachweis des $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Komplexes mit dem Massenspektrometer:

Problemstellung: Das bei der Gaschromatographie zu erwartende Verhalten der Cd- Komplexe soll untersucht werden.

Versuch: Probe: 200 ppm Cadmium als DEDTC- Komplex in  $\text{CHCl}_3$ /  
Äthanol: 50 : 50.

Die Probe wird mit einem Massenspektrometer Varian CH 7-A mit offen gekoppelter Glaskapillarsäule ( SE 30, 25 m ) untersucht.

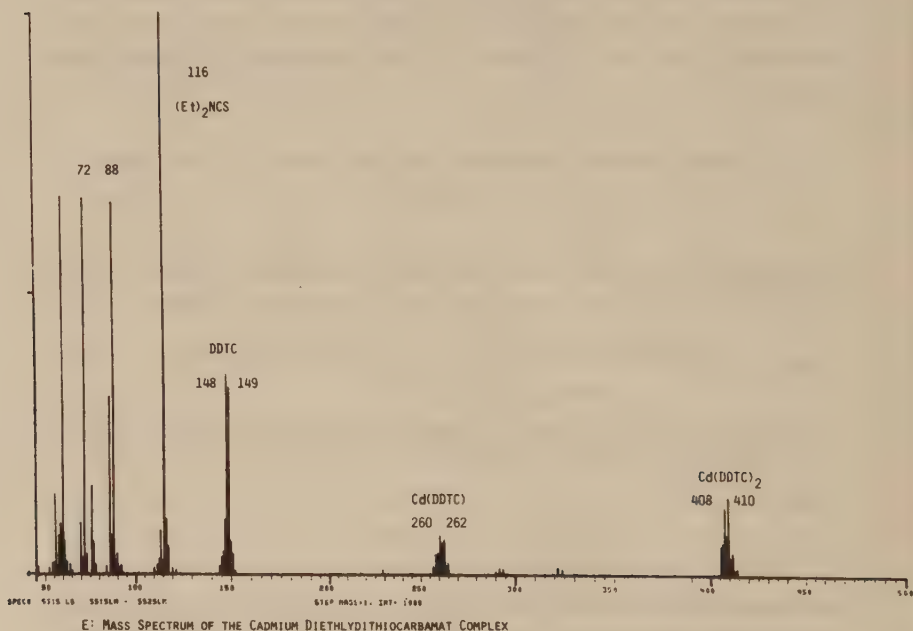
### Ergebnisse und Diskussion:

Auf dem in Abbildung 10 gezeigten Massenspektrum sind die für die Analyse wichtigen Substanzen gekennzeichnet. Neben dem vollständigen  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ - Komplex findet sich auch ein Halbkomplex  $\text{Cd}(\text{DEDTC})$ . Dabei handelt es sich wohl um ein Zerfallsprodukt des  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ . Die Cluster- Bildung der Massen mit einem Maximum bei jeweils 408/ 410 beziehungsweise 260/ 262 wird durch verschiedene Isotope des Cadmium in der Probe verursacht.

Neben den beiden Cadmium enthaltenden Substanzen findet sich auch der Komplexbildner DEDTC, dissoziiert MW: 148, undissoziiert MW: 149. Außerdem mehrere als Zerfalls- und Kondensationsprodukte des  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  zu deutende Substanzen.

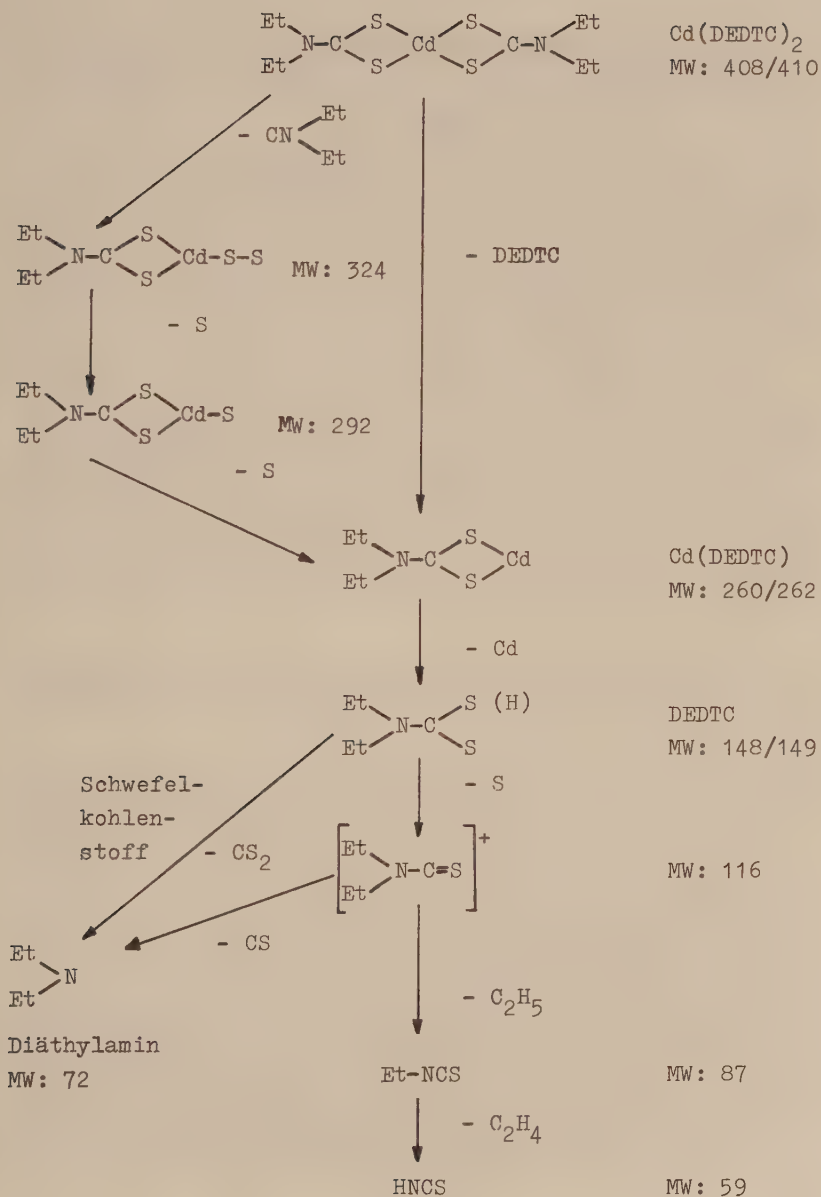
Abb. 10: Massenspektrum des Cadmiumchelatkomplexes:

Gerät: Varian CH 7 A. Versuchsbedingungen s. S. 61.



Die folgende Übersicht soll eine Aufschlüsselung der verschiedenen auftretenden Massen und der Zersetzung des Cadmiumkomplexes geben:

Et = Äthylgruppe



Die Substanz mit der Masse 116 kann auch als Disulfidverbindung gedeutet werden:



Bei Versuchen mit einem Massenspektrometer mit gepackter Säule und Spaltseparator ist zwar kein Nachweis des vollständigen  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ -Komplexes möglich, da es zu einer Zersetzung des Komplexes am Spaltseparator kommt. Es können jedoch ähnliche Fragmente wie die oben erwähnten gefunden werden. Sie können ebenfalls als Kondensationsprodukte zweier Diäthylthiocarbaminsäuremoleküle oder deren Bruchstücke aufgefaßt werden. Diese Substanzen sind in ihrer Struktur dem als Antabus<sup>R</sup> bekannten Disulfiram ähnlich. Dabei handelt es sich um eine Substanz, die gaschromatographisch gut nachweisbar ist. Es ist also bei der gaschromatographischen Untersuchung von DEDTC-Komplexen mit dem Auftreten von derartigen, den Komplexnachweis störenden Substanzen zu rechnen.

Zur Frage der Molekülform, die entscheidenden Einfluß auf das Chromatographieverhalten der Komplexe hat, sei auf zwei Artikel verwiesen:

Ausgehend von der Tatsache, daß sie beim Chromatographieren von Cd- oder Zn-  $(\text{DEDTC})_2$ -Komplexen Doppelpeaks erzielen, die nicht voll auftrennbar sind, nehmen Ahmad und Aziz an, daß es sich hier um die Kombination von Mono- und Dimeren der Chelatkomplexe handelt (1).

In einer Arbeit von Villa und Mitarbeitern (73) finden sich massenspektrographische Untersuchungen von Zn(II)- und Cu(II)-DEDTC-Komplexen. Die Ergebnisse für das Zink dürften wohl in ähnlicher Weise für das Cadmium gelten. Komplexdimere entstehen dadurch, daß sich zwei Komplexe so aneinanderlagern, daß das Zentralatom des einen Komplexes eine Bindung mit einem der S-Atome des anderen Komplexes eingeht und umgekehrt.

Diese Dimere der Zn- Komplexe sind verhältnismäßig temperaturbeständig, im Gegensatz zu Kupfer und anderen Metallen. Dies zeigt sich schon in den unterschiedlichen Bindungslängen. Das Mengenverhältnis von Monomeren zu Dimeren ist nach Ahmad temperaturabhängig (1). Da eine solche Aufspaltung der Peaks die Auswertung von Chromatogrammen erschwert, muß versucht werden, sie durch die Wahl der Chromatographierparameter auszuschalten. Zum Auftreten von Dimerendoppelpeaks siehe den Abschnitt über Säulenmaterial auf Seite 68. Bei den hier durchgeführten massenspektrometrischen Untersuchungen können keine Cd- Dimere nachgewiesen werden.

Zusammenfassung: Es wird bewiesen, daß es sich bei den gaschromatographisch nachweisbaren Substanzen um  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ -Komplexe handelt. Weiterhin werden die möglichen Abbauprodukte des Komplexes dargestellt. Außerdem werden die Auswirkungen der Molekülform auf das Verhalten in der Säule angesprochen.

#### Gaschromatographische Parameter für FID- und NFID- Messungen:

##### 2.2. Säulenwände, Säulenlänge, Träger und flüssige Phase:

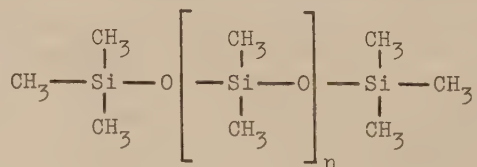
A) Es kommen nur Säulen aus Glas in Frage. Säulen aus verschiedenen Metallen sind zur Gaschromatographie von Dithiocarbamaten als Komplexbildnern ungeeignet, da es bei ihnen zur Komplexzersetzung oder zum Metallaustausch kommen kann. Deshalb ist es auch wichtig, die Metallverbindungen zwischen Säule und Detektor oder Einspritzblock möglichst kurz zu halten. Ein Metallaustausch an den Nadeln der verwendeten Mikroliterspritzen ( Unimetrics ) kann auch bei sehr niedrigen Metallkonzentrationen und empfindlicher Detektoreinstellung in den durchgeführten Versuchen nicht nachgewiesen werden. Zur Vermeidung von Adsorptionseffekten an den Glaswänden der

Säulen ist eine Vorsilanisierung vor dem Befüllen z. B. mit DMCS unumgänglich. Der Vergleich derselben Probe ( 200 ppm Cd ) einmal auf einer Säule OV 101 mit Vorsilanisierung und einmal ohne zeigt, daß die Ausbeute im zweiten Fall nur ca. 60 % beträgt.

B) Säulenlänge: Eine Länge von 1 m erweist sich als ausreichend. Bei 50 cm langen Säulen ist die Trennleistung nicht zufriedenstellend.

C) Träger: Die Art des Trägers ist bei den fertig zu beziehenden Säulenmaterialien vorgegeben. Bei dem hier hauptsächlich verwendeten OV 101 handelt es sich um Chromosorb W HP 80 / 120, d. h. flußcalciniertes Kieselgur. Dieses Trägermaterial ist zur Verringerung von Adsorptionswirkungen ebenfalls mit DMCS vorbehandelt. Die Wirksamkeit dieser Vorbehandlung zeigt sich darin, daß verbrauchte Säulen nach Injektion von DMCS eine verbesserte Trennleistung aufweisen ( 31 ), was ebenfalls bei den hier durchgeführten Versuchen festzustellen ist.

D) Auswahl der flüssigen Phase: Als flüssige Phase werden aufgrund der erwähnten Literaturempfehlungen hier nur Methylsilikone wie OV 1 und insbesondere OV 101 verwendet. Die Methylsilikone haben folgende chemische Grundstruktur (71):



Die beiden äußeren Bausteine sind jeweils monofunktionale Endblocker. n gibt die Anzahl der difunktionalen Zwischenbausteine an.

OV 1: hat ein Molekulargewicht von mehr als  $10^6$ . Es verhält sich daher in Hinblick auf seine Viskosität wie ein fester Gummi.

OV 101: hat ein Durchschnittsmolekulargewicht von  $3 \cdot 10^4$  und verhält sich wie eine Flüssigkeit.

Für beide wird eine Temperaturgrenze von  $325 - 375^\circ\text{C}$  angegeben (71).

Die Vorteile von OV 101 gegenüber OV 1 ( SE 30 ) sind folgende:

- Höhere Trennleistung auch bei niedrigen Arbeitstemperaturen.
- Bessere Stabilität bei höheren Temperaturen. Denn es kommt bei OV 1 in größerem Umfang zur Abspaltung von niedermolekularen Bruchstücken oder zur Bildung von cyclischen Methylsilikonen. Diese Substanzen führen bei der Säulenkonditionierung zu starkem Säulenbluten und während des Betriebs zu einer schnellen Veränderung der Säuleneigenschaften (71).

Neben der Stabilität ist die Trennleistung der flüssigen Phase wichtig. Die Methylsilikone sind wegen ihrer geringen Polarität für die Gaschromatographie von Dialkyldithiocarbaminsäurekomplexen besonders gut geeignet.

#### Versuche zur Trennleistung:

Als Maß für die Trennleistung kann die theoretische Trennstufenzahl dienen, die sich folgendermaßen ermitteln läßt (57):

$$n = 5,54 \left( \frac{t_{m+s}}{b_{0,5}} \right)^2; \quad \begin{array}{l} t_{m+s} = \text{Gesamtretentions-} \\ \quad \text{zeit ( mobile und} \\ \quad \text{stationäre Phase )} \end{array}$$

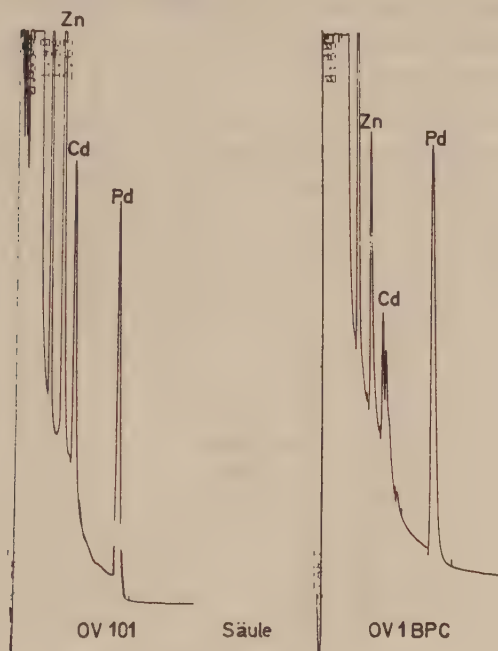
$$b_{0,5} = \text{Peakbreite in} \\ \quad \text{halber Höhe}$$

Für das Säulenmaterial 5 % OV 101 ergibt sich bei einer Säulenlänge von 1 m, Temperatur 260°C, Flow: 20 ml He / min mit einem N- FID eine Trennstufenzahl von ca. 2050 auf einem HP 5830- Gaschromatographen. Unter gleichen Bedingungen erzielt man auf einem Pye 104 mit N- FID eine Trennstufenzahl von 1150. Diese Differenz erklärt sich wohl nicht nur durch die unterschiedliche Bauweise des Detektors, sondern auch andere Variable wie geometrische Anordnung der Säule, des Einspritzblocks und Detektors, Verwendung von Metall u. ä.. Die Probe hat eine Konzentration von 10 ppm Cd. Bei höheren Konzentrationen ( 150 ppm ) und Verwendung eines FID hat die Säule im HP 5830 eine Trennstufenzahl von 1600, die im Pye 104 eine von 1250.

Die Trennstufenzahl für 5 % OV 101 und N- FID von 2050 ergibt bei ca. 1 m Länge eine Bodenhöhe von ungefähr 0,5 mm; Dieser Wert ist in Übereinstimmung mit geforderten Werten ausreichend (57).

Von Bedeutung ist auch die Konzentration der stationären Phase. Ist sie zu niedrig, kommt es leicht zur Überladung der Säule. Bei zu hoher Belegung sinkt die Trennleistung, weil die Gleichgewichtseinstellung zwischen fester und flüssiger Phase erschwert wird. Bei Verwendung einer 2 % igen OV 101 Belegung erzielt man mit einem FID nur eine Trennstufenzahl von 600. 3 % ige OV 1, hier mit 0,5 % BPC hat eine gute Trennstufenzahl von ca. 2000/ m. Jedoch treten v. a. in niedrigen Konzentrationsbereichen Doppelpeaks auf, wie sie von Ahmad und Aziz (1) ebenfalls auf OV 1 festgestellt wurden. Abbildung 11 zeigt dieselbe Probe einmal auf OV 1 BPC und einmal auf OV 101 ( 2 ppm Cd und 5 ppm Pd als DEDTC- Komplex ). Weiterhin macht sich bei OV 1 störend bemerkbar, daß es aufgrund der etwas unterschiedlichen Trenneigenschaften im Vergleich zu OV 101 zu einer deutlicheren Darstellung von Peaks vor dem Cd kommt. Es handelt sich hier

Abb. 11: Chromatogramme einer Probe ( 2 ppm Cd, 5 ppm Pd )  
 mit Säule OV 101 und OV 1 BPC:  
 Säulenlänge: 1 m; Detektor: N-FID; He- Flow: 23 ml/  
 min  
 Temperaturprogramm: s. S. 79



vermutlich um den freien Komplexbildner oder dessen Spaltprodukte wie Amine o. ä.. Die Doppelpeaks des Cd, die bei einer Retentionszeit von 3 min ca. 20 Sekunden auseinanderliegen, treten bei mehrmaliger Darstellung derselben Probe manchmal in einem unterschiedlichen Größenverhältnis zueinander auf und machen deshalb eine quantitative Aussage unmöglich. Es handelt sich wohl, wie erwähnt um die reversible Bildung von Komplexdimeren. Das Auftreten **dieser Doppelpeaks** kann bei der OV 101- Belegung nicht festgestellt wer-

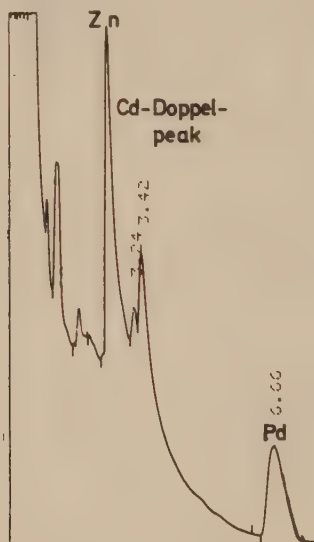
den, solange die Säule nicht verbraucht ist. Die Auflösung als ein weiteres Maß zur Bestimmung der Trennleistung wird im Abschnitt 2.7. auf Seite 84 angesprochen.

#### Versuche zur Stabilität und Alterung der Säule:

Eine Verschlechterung der Säulenleistung macht sich folgendermaßen bemerkbar:

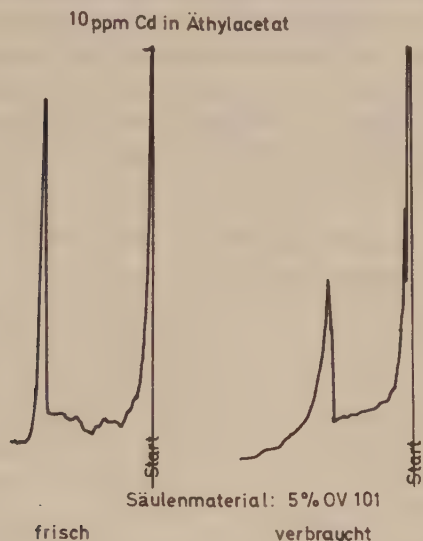
- In den oben erwähnten Doppelpeaks. Wobei aber nicht sicher festzustellen ist, ob es sich tatsächlich um Dimere handelt. Denkbar ist auch das Auftreten von "Geisterpeaks", die durch das Herauslösen von Cd anderen Metallen früherer Injektionen entstehen. Siehe hierzu Abbildung 12.

Abb. 12: Cd- Doppelpeak bei verbrauchter Säule ( OV 101 ):



- Durch Tailing: Die Zahl der Trennstufen verringert sich auf einem Pye 104 mit N- FID von 1150 bei frischer Säule auf ca. 200 bei verbrauchtem Säulenmaterial. Siehe dazu Abbildung 13.

Abb. 13: Verschlechterung der Trennleistung und deutliches Tailing bei gealtertem Säulenmaterial:



- Durch Verringerung der Peakhöhe bis zum völligen Ausbleiben einer Detektorantwort. Dies wird einerseits verursacht durch das Ausbleiben einer ausreichenden Gleichgewichtseinstellung und eine schnelle Elution der Substanzen. Andererseits auch durch Adsorption des Metalls oder seines Komplexes am Träger.
- Geisterpeaks: Die Annahme von Adsorptionswirkungen wird auch dadurch bestätigt, daß bei verbrauchten Säulen manchmal mehr als eine Probeninjektion nötig ist, um eine Detektorantwort zu erzielen. Ähnliches wird in einer Arbeit von Rodríguez- Vazquez (55) berichtet. Auch die Freisetzung anderer Metalle von früheren Proben, evtl. durch Umchelatisierung ( Austausch des Zentralatoms im Komplex ), kommt vor.

Um zu beweisen, daß sich in verbrauchtem Säulenmaterial Cd ansammelt, wird ein Teil der Säulenfüllung mit Salpetersäure bei  $120^{\circ}\text{C}$  aufgeschlossen. Der Aufschluß wird mit Na-DEDTA versetzt und extrahiert. Die gaschromatographische Auswertung erfolgt im Vergleich zu einer Leerprobe. Dabei läßt sich in der Probe neben einer Anzahl anderer Metalle ( Zn, Pb, Cu ) auch Cadmium nachweisen. Die Leerprobe enthält im Rahmen der Meßempfindlichkeit keine Metalle.

Diskussion: Als flüssige Phase ist 5 % iges OV 101 besser geeignet als andere Methylsilikone ( OV 1 ) oder Säulenmaterialien aus anderen Substanzen. Die Trennkraft ist ausreichend. Auch die Abtrennung der Metalle von Lösungsmittelpeaks oder den Zerfallsprodukten der freien Komplexbildner ist gut. Einigermmaßen zufriedenstellend ist auch die Haltbarkeit der Säule; sie reicht für einige hundert Injektionen. Als mögliche Ursachen für die Verschlechterung der Säulenleistung kommen in Frage:

- Thermische Zersetzung: "Säulenbluten". Bei den angewandten Arbeitstemperaturen besteht jedoch eine Sicherheitszone von mindestens  $75^{\circ}\text{C}$ .
- Eine Zersetzung durch die bei der Phasenherstellung verwendeten Katalysatoren spielt beim Reinheitsgrad der fertigen Säulenmaterialien keine große Rolle (71).
- Lösungsmittel: Von den untersuchten Lösungsmitteln verhalten sich alle inert. Ausnahme ist das MIBK. Siehe Seite 45.
- Verschleppte Säurespuren vom Extraktionsprozeß können z. B. bei MIBK und vielleicht auch bei anderen Lösungsmitteln eine aggressive Wirkung entfalten.
- Freier Komplexbildner und seine Zersetzungsprodukte: Ihr Einfluß ist schwer abzuschätzen.
- Untersuchte Metalle und Metallkomplexe: Nach Trash (71)

kann z. B.  $\text{FeCl}_3$  zu einer Verschlechterung der Säule führen. Inwieweit die Säulenzersetzung durch stark konzentrierte Proben oder bestimmte Metalle beschleunigt wird, ist ebenfalls schwer abzuschätzen. Hier liegt auch eine Schwierigkeit der Analyse aus biologischem Material. Bei ihr muß man mit einer großen Menge an unerwünschten Metallen wie z. B. auch Fe in den Extrakten rechnen.

- Eine Zersetzung der Phase durch Sauerstoff ist bei den verwendeten Trägergasen ausgeschlossen.

Ein rechtzeitiges Erneuern der Säulenfüllung ist im Interesse einer quantitativen Messung unumgänglich. Denn die Säulenleistung kann für einige Metalle noch sehr gut sein ( Cu, Pd ), während andere Metalle bei verbrauchter Säule kaum noch einen Detektorausschlag hervorbringen ( Tl, Zn, Cd, Pb, Co ).

### 2.3. Trägergasfluß, Säulengeometrie, Totraumvolumina:

Von großer Bedeutung für die Wirksamkeit der Säule ist die Flußgeschwindigkeit des Trägergases. Sie beeinflusst die Einstellung des Gleichgewichts zwischen stationärer und gasförmiger Phase. Bei sehr niedrigem Flow kommt es in der Gasphase vermehrt zu verschiedenartigen Diffusionsvorgängen in Richtung der Säulenachse. Bei sehr hohem Flow wird eine vollständige Gleichgewichtseinstellung nicht erreicht. Beides führt zu einer Peakverbreiterung und einer Verschlechterung des Auflösungsvermögens. In der Praxis muß ein Gasfluß gewählt werden, der bei guter Auflösung keine zu langen Retentionszeiten erfordert.

Wichtig ist auch eine geeignete räumliche Anordnung der Säule und ihrer Verbindungsteile zwischen Einspritzblock bzw. Detektor. In den nur mit Trägergas gefüllten sogenann-

ten Toträumen kommt es durch verschiedene Effekte zu einer Verschlechterung der Trennleistung:

- Diffusion in Längsrichtung führt zur Verbreiterung der Peaks (57).
- Adsorption der Komplexe an die Wände tritt vermehrt auf. Besonders am Einspritzblock kann es zu einem verzögerten Eintritt der Probe in den trennwirksamen Säulenabschnitt kommen. Vor allem am Säulenende und im Übergang zum Detektor führt eine Verschmutzung der Wände durch Reste früherer Proben zu einer verstärkten Adsorption oder auch Zersetzung.

#### Versuche, Ergebnisse und Diskussion:

- Nachdem die überwiegende Zahl der Versuche mit Helium als Trägergas durchgeführt wird, wird Stickstoff ebenfalls auf einem Gaschromatographen mit N- FID verwendet. Dabei zeigt sich eine gleich gute Qualität der Chromatogramme.
- Zur Ermittlung der optimalen He- Trägergasgeschwindigkeit für den Nachweis von Cd- Komplexen auf einer 1 m langen Säule mit 5 % OV 101 bei 250°C wird die Bodenhöhe in Abhängigkeit vom Flow bestimmt. Abbildung 14 zeigt, daß eine optimale Trennstufenhöhe bei einem Flow von 23 ml / min erzielt wird. Da hiermit ebenfalls für die zu bestimmenden Substanzen annehmbare Retentionszeiten zu erhalten sind, wird diese Geschwindigkeit für die weiteren Versuche beibehalten.
- Den Einfluß von Totraumvolumina auf die Säulenleistung zeigt Abbildung 15. Nach dem Auffüllen von Säulenmaterial bei einem zusammengesinterten Träger ( ca. 3 cm am Säulen- anfang ) läßt sich bei annähernd gleicher Pd- Ausbeute für Cd eine vorher kaum vorhandene Detektorantwort erzielen ( 10 ppm Cd, 20 ppm Pd ). Dies weist auf die verschiedenen guten Chromatographiereigenschaften der Metalle hin.

Abb. 14: Trägergasfluß und Trennbodenhöhe: ( HETP )(s. S. 74)

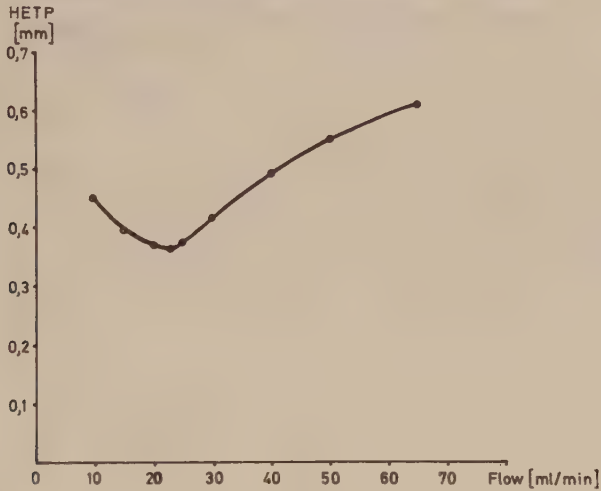
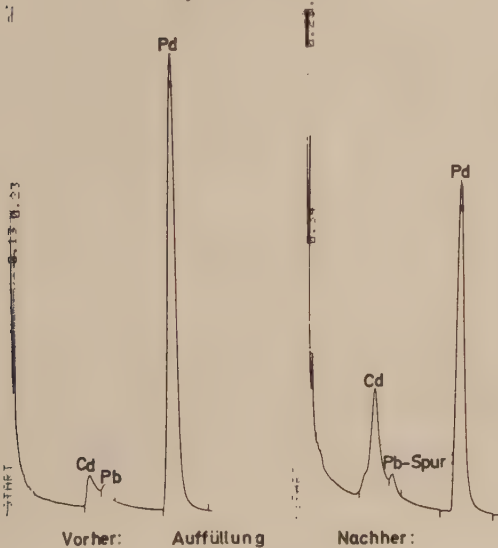


Abb. 15: Einfluß von Totraumvolumina auf die Säulenleistung:

10ppm Cd und 20ppm Pd in  
Äthylacetat

Säule: 5 % OV 101;  
Flow: 25 ml / min;  
Detektor: N- FID;  
Probenvolumen: 1  $\mu$ l;  
Temperaturprogramm:  
siehe Seite 79.



#### 2.4. Säulentemperatur, Einspritzblocktemperatur, Detektortemperatur, Temperaturprogramme:

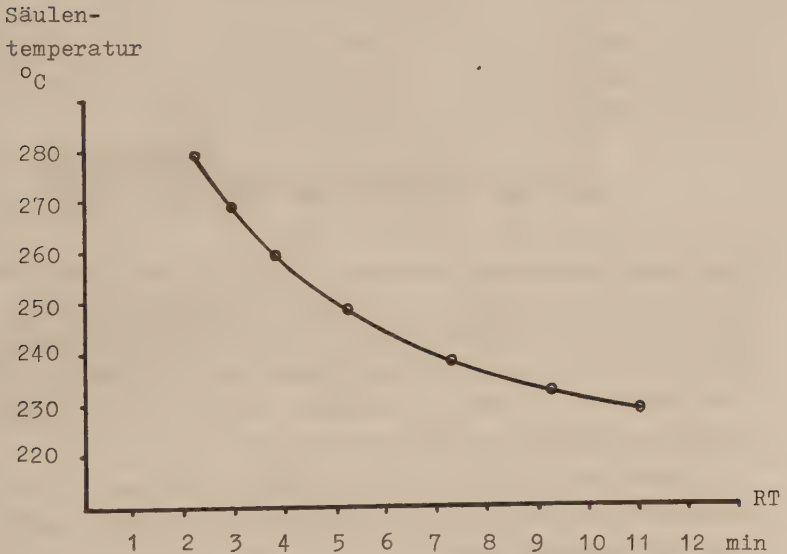
Problemstellung: Von den getrennt regelbaren Temperatur - systemen im Gaschromatographen ist nur die Säulentemperatur ein Parameter im thermodynamischen Sinn. Sie beeinflusst bei einer vorgegebenen stationären Phase die Verteilungskoeffizienten der zu trennenden Substanzen. Diese Koeffizienten sind bestimmt durch die Löslichkeit des Stoffes und den Dampfdruck, welche beide temperaturabhängig sind. Ziel ist es, eine Temperatur zu finden, bei der die Differenz der Verteilungskoeffizienten der zu trennenden Metallkomplexe am größten ist. Weiterhin gilt:

- Dampfdruck und Zersetzung der stationären Phase müssen vernachlässigbar klein sein. Diese Voraussetzung ist für das verwendete Säulenmaterial erfüllt.
- Die Trennflüssigkeit darf bei der Arbeitstemperatur nicht zu hochviskös sein. Sonst kann kein Stoffaustausch stattfinden. Auch diese Forderung ist für OV 101 erfüllt.
- Eine Umwandlung oder Zersetzung der zu trennenden Substanzen bei der Arbeitstemperatur muß vermieden werden. Aus den auf Seite 30 besprochenen Thermogrammen ist ersichtlich, daß es bei den hier angewandten Temperaturen zu keiner merklichen Zersetzung des Cd- Komplexes kommt.
- Temperatur im Probengeber: Sie sollte höher als die Säulentemperatur sein. So kommt es zu einer schnellen vollständigen Verdampfung der Probe, und eine Adsorption an den Säulenlenwänden wird möglichst gering gehalten. Andererseits darf die Temperatur nicht so hoch sein, daß es zu einer Zersetzung der Probensubstanz kommt.
- Detektortemperatur: Sie soll ebenfalls mindestens so hoch wie im Probengeber sein, damit es auch dort nicht zur Ad-

sorption an Metall oder Glas kommt.

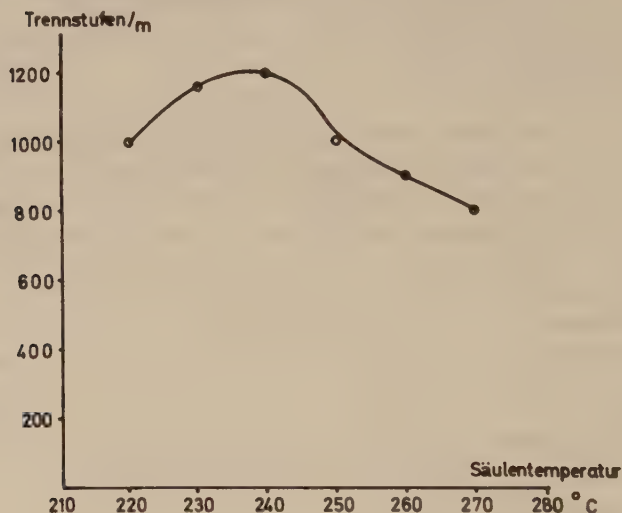
Versuche und Ergebnisse: Die Abhängigkeit der Retentionszeiten für  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$  von der Säulentemperatur ist in Abbildung 16 dargestellt.

Abb. 16: Temperaturabhängigkeit der Retentionszeit des  $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ -Komplexes: (Gerät: Pye 104; Säule: 5 % OV 101, 1 m lang; He-Flow: 20 ml/min; Detektor: FID; Metallkonzentration: 250 ppm Cd; Einspritzmenge: 1  $\mu\text{l}$ )



In Abbildung 17 ist die Beziehung zwischen der Trennstufenzahl und der Säulentemperatur dargestellt. Es gelten die gleichen Bedingungen wie für Abbildung 16.

Abb. 17: Anzahl der Trennstufen in Abhängigkeit von der Säulentemperatur:



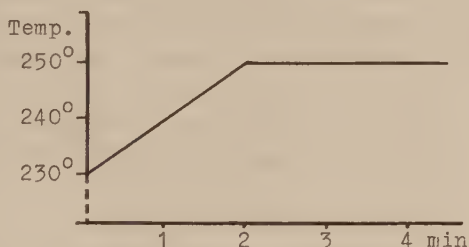
Bei einer Probengebertemperatur von 20 bis 40° über der Säulentemperatur werden die besten Ergebnisse erzielt. Sind beide Temperaturen gleich oder die Säulentemperatur höher, kommt es zu einer deutlichen Verbreiterung der Peaks mit Tailing und Peakhöhenabnahme, und auch zu einer geringen Verlängerung der Retentionszeit.

Als Detektortemperatur erweist sich die für den N- FID in den Betriebsanleitungen angegebene Temperatur von 300°C als zufriedenstellend.

Diskussion: Grundsätzlich läßt sich im Bereich von 220° bis 290°C Säulentemperatur Cadmium als DEDTC- Komplex nachweisen. Auch ist die Peakflächengröße und damit die nachgewiesene Menge über einen großen Temperaturbereich einigermaßen gleichmäßig. Die Trennleistung der Säule ist jedoch

zwischen 230 und 250°C am größten. Oberhalb von 260 - 270°C rückt der Cd- Peak sehr nahe an den Lösungsmittel-peak. Unterhalb von 230°C zeigt sich neben der nicht erwünschten Verlängerung der Retentionszeit eine starke Verbreiterung und Höhenabnahme der Peaks. Unabhängig von der Beurteilung der Trennleistung anhand der Trennstufenzahl gelingt die Abtrennung des Cd von Cu als störendem Metall im Bereich von 230 - 250°C am besten. Siehe dazu Seite 84. Auch für die Anwendung von Pd als Innerem Standard erweist sich dieser Temperaturbereich als geeignet. Vorteilhaft ist das folgende Standardtemperaturprogramm:

Temp. 1: 230°C  
 Time 1: 0  
 Rate: 10°/ min  
 Temp. 2: 250°C  
 Inj. Temp.: 280°C  
 FID- Temp.: 300°C



Es ermöglicht eine gute Komponententrennung am Anfang und führt andererseits nicht zu zu langen Retentionszeiten des Standards Palladium.

## 2.5. Lösungsmittel, Einspritzmenge, Reproduzierbarkeit:

Problemstellung: Im Hinblick auf die gaschromatographische Eignung müssen bei einem Lösungsmittel abgesehen von den Extraktionseigenschaften folgende Punkte berücksichtigt werden:

- Aggressivität des Lösungsmittels oder in ihm vorhandener Verunreinigungen gegenüber dem Säulenmaterial.
- Eignung für den Detektor: Z. B. ist reines Chloroform für

den FID nicht geeignet. Es führt zur Abschwächung der Detektorflamme und somit zur Empfindlichkeitsänderung oder auch zum Erlöschen der Flamme und zur Verschmutzung. Für den N- FID ist es ebenfalls ungeeignet, da es den Kristall angreift.

- Polarität und Flüchtigkeit des Lösungsmittels: Sie beeinflussen die Breite und v. a. das Tailing des Lösungsmittelpeaks mit Auswirkung auf die Darstellung der Metallchelate.

Die Probeneinspritzmenge in  $\mu$ l bestimmt bei spurenanalytischen Untersuchungen bei einer gegebenen Konzentration die Menge des nachzuweisenden Metalls und damit die Nachweisgrenze. Im Interesse einer möglichst guten Reproduzierbarkeit der Probeneingabe und einer niedrigen Nachweisgrenze sollte das Probenvolumen groß sein. Andererseits kommt es bei zu großen Volumina zur Überladung der Säule.

#### Versuche und Ergebnisse:

- Um  $\text{CHCl}_3$  für die Messungen mit dem FID anwendbar zu machen, werden die Proben nach der Extraktion in einem Verhältnis von 50 : 50 mit Äthanol versetzt. Die Löslichkeit der Komplexe ist auch in höheren Konzentrationen gut.
- Als Ersatz für Chloroform werden für den empfindlicheren N- FID verschiedene Lösungsmittel untersucht ( siehe die Seiten 43 bis 48 ).

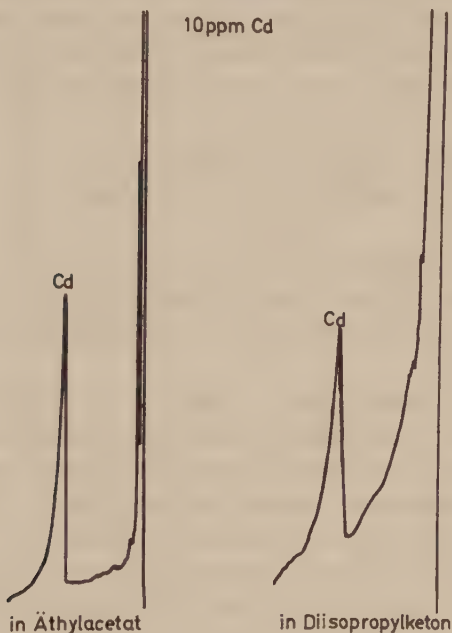
Von ihnen ist das MIBK wegen seiner Aggressivität gegenüber der Säule ungeeignet.

Diisopropylketon: Bei ihm treten im Vergleich zum Äthylacetat breite Lösungsmittel- oder Anfangspeaks auf, die die Chromatogramme verschlechtern. Der gravierendere Nachteil ist jedoch die starke Neigung zu Grenzflächenreaktionen. Siehe dazu den Abschnitt über die Probenstabilität

auf Seite 51.

Äthylacetat liefert schmale Anfangspeaks, wie Abbildung 18 zeigt. Beide Lösungsmittel verhalten sich dem Säulenmaterial und den Detektoren gegenüber inert.

Abb. 18: Unterschiedliche Breite der Anfangspeaks von Äthylacetat und Diisopropylketon: Detektor: N- FID;



Höhere Alkohole lassen sich als Reinsubstanz gut chromatographieren, sind jedoch wegen ihres geringen Lösungsvermögens für DEDTC- Chelate, wie erwähnt, nicht geeignet. Benzol o. ä. ist deswegen nicht brauchbar, weil es leicht zur Verschmutzung der Detektoren führt.

- Probenmenge: Bei Handinjektion liegt die günstigste Menge bei 2  $\mu$ l. Oberhalb von 4 - 5  $\mu$ l kommt es zur Überla-

stung der Säule, d. h. die Trennung zwischen Anfangs-peak und Metallkomplexpeak ist unzureichend. Unterhalb von 1  $\mu\text{l}$  ist die Reproduzierbarkeit der Messungen bei den verwendeten 10  $\mu\text{l}$ - Unimetricsspritzen schlecht. Bei Anwendung eines Autosamplers ist die Wiederholbarkeit auch bei 0,5 bis 1  $\mu\text{l}$  gut.

Diskussion: Von den untersuchten Lösungsmitteln ist Äthylacetat auch in Hinblick auf seine gaschromatographischen Eigenschaften für DEDTC- Komplexe und Methylsilikonsäulen am besten geeignet. Das Probenvolumen sollte 2  $\mu\text{l}$  betragen.

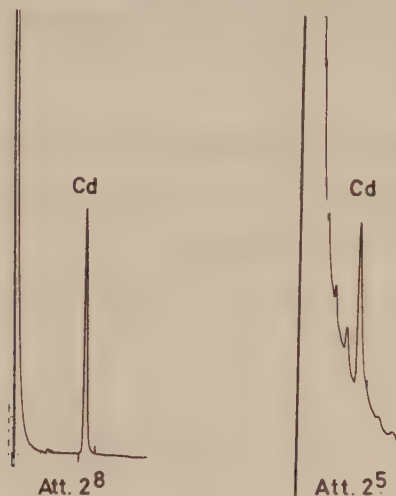
## 2.6. Eigenschaften und Nachweisgrenze des Flammenionisationsdetektors für $\text{Cd}(\text{DEDTC})_2$ :

Die Konzentrationsangabe "ppm" ( = 1 ng/  $\mu\text{l}$  ) bezieht sich auf die Menge an extrahiertem Cadmiummetall. Die tatsächliche Menge an Chelatkomplex beträgt das 3,64 fache.

Versuche und Ergebnisse:      Geräte: Pye 104; HP 5830;  
Als Obergrenze für den FID wird eine Konzentration von 1000 ppm ermittelt. Bei dieser Menge kommt es zu einer deutlichen Überlastung der Säule. Vor dem eigentlichen Cadmium-peak tritt ein Vorläufer auf, der anzeigt, daß die Kapazität der 5 % OV 101 Säule überschritten ist ( "Leading" ). Bei der Hälfte der Metallmenge ist dieser Peak nicht mehr nachweisbar.

Die untere Nachweisgrenze ist durch die Empfindlichkeitscharakteristik des Detektors bestimmt. Da der FID stark auf das Lösungsmittel anspricht, kann man ab einer gewissen Menge den Metallkomplex auch bei größter Verstärkung nicht mehr vom Lösungsmittel unterscheiden. Abbildung 19 zeigt die Zunahme des Lösungsmittelpeaks im Vergleich zum Cd-Peak bei einer 10 fach geringeren Cd- Konzentration.

Abb. 19: 500 und 50 ppm Cd in  $\text{CHCl}_3$ / Äthanol; Probenmenge: 1  $\mu\text{l}$ ; Säulentemperatur:  $260^\circ\text{C}$ ; Flow: 20 ml/min; Detektor: FID;



Als Untergrenze wird mit dem Pye 104 eine Menge von 100 ng erzielt, mit dem HP 5830 40 - 50 ng. Dies entspricht bei einem Probenvolumen von 1  $\mu\text{l}$  einer Konzentration von 100 bzw. 40 - 50 ppm Cadmium. Unterhalb dieser Werte ist kein vom Lösungsmittel sicher abgrenzbarer Peak mehr zu erzielen. Ursache ist vermutlich in geringem Maße auch die Adsorption im Aufbewahrungsgefäß oder an der Säule. Jedoch ist die Leistungsgrenze der Säule noch nicht erreicht. Eine lineare Abhängigkeit der Detektorantwort von der Probenmenge ist für den HP 5830 von 100 bis 500 ng Cadmiummetall gegeben.

Diskussion: Der FID ist für den Cd- Nachweis im Spurenbereich nur wenig geeignet. Er erreicht nicht die Leistungsfähigkeit der Trennsäule. Dies trifft nicht nur für Cd zu.

Denn viele Metalle lassen sich ähnlich wie das Cd nur schlecht vom Lösungsmittelpeak abgrenzen, insbesondere wenn sie kurze Retentionszeiten haben. Da andererseits das verwendete Säulenfüllmaterial ab ca. 500 ppm bereits zur Überladung neigt, umfaßt der dynamische Bereich des FID kaum eine Zehnerpotenz ( 50 - 500 ppm ).

## Gaschromatographie von $\text{Me(DEDTC)}_n$ -Komplexen mit dem N- FID:

### 2.7. Darstellung weiterer Metalle, Identifikation des Cd, Trennschärfe:

Problemstellung: Von den mit Na- DEDTC extrahierbaren Metallen kommen einige in biologischem Material vor. Sei es, daß sie bei Vergiftungen auftreten, sei es, daß sie physiologischerweise dort vorhanden sind. Inwieweit sich einige von ihnen ebenfalls zur Gaschromatographie eignen oder sogar bei den für Cd ermittelten Bedingungen im Chromatogramm erscheinen, soll gezeigt werden. Sie werden für die Analyse von Organproben identifiziert ( Multielementanalyse ). Weiterhin soll auch eine sichere Abgrenzung des Cd zu störenden Metallen ermöglicht werden und das Auflösungsvermögen der Säule geprüft werden.

### Versuche und Ergebnisse:

Untersucht werden: Fe, Co, Ni, Pd, Cu, Ag, Zn, Cd, Hg, Tl, Pb,

Folgende Metallkomplexe lassen sich bei den für Cadmium optimierten Bedingungen darstellen ( Messungen bei 100 und 10 ppm Metall ). Säule: 5 % OV 101; Detektor: N- FID; Temperaturprogramm: siehe Seite 79; He- Flow: 23 ml/ min; Silanisierte Probengefäße;

| Metall: | Retentionszeit:<br>( min )         | Chromatographierbarkeit: |                      |
|---------|------------------------------------|--------------------------|----------------------|
|         |                                    | 100 ppm:                 | 10 ppm:              |
| Fe      | 1,45 - 2,40                        | + ?                      | Ø                    |
| Zn      | 2,65 - 2,70                        | +                        | -                    |
| Cd      | 3,40 - 3,45                        | +                        | Siehe Nachweisgrenze |
| Cu      | 3,70 - 3,80                        | + +                      | + +                  |
| Ni      | 4,15 - 4,20                        | +                        | +                    |
| Hg      | 4,35 - 4,40 Doppelpeak<br>bei 4,65 | +                        | -                    |
| Pb      | 4,70 - 4,75                        | -                        | Ø                    |
| Pd      | 6,75 - 6,95                        | + +                      | + +                  |
| Co      | 13 - 15                            | -                        | Ø                    |

Gaschromatographische Eignung: + + = sehr gut; + = gut;

- = schlecht; Ø = kein

Nachweis;

Die chromatographische Eignung, d. h. die Größe der Detektorantwort bezogen auf die Probenkonzentration, ist sehr unterschiedlich ( Vergleich zu Cd ). Die Identifikation der Peaks erfolgt durch Injektion der Einzelsubstanzen. Auch bei Multielementdarstellungen zeigt sich die in der Tabelle aufgeführte unterschiedliche Ansprechbarkeit bei den einzelnen Metallen. Eine Verringerung der Ausbeute an Cd oder Pd bei der Extraktion durch die obengenannten Metalle wird nicht beobachtet. Bei Konstanthaltung der Chromatographierbedingungen in der genannten Weise ist eine sichere Identifikation aller Metalle anhand ihrer Retentionszeiten möglich. Die angegebenen Zeitdifferenzen beziehen sich auf Handinjektion. Abweichung für Cd:  $\pm 0,75$  %. Mit einem automatischen Probengeber läßt sich eine noch bessere Einhaltung der Retentionszeiten erzielen; Abweichung für Cd:  $\pm 0,25$  %. Das Auflösungsvermögen für den genannten

Temperaturbereich ist zufriedenstellend. Oberhalb  $260^{\circ}\text{C}$  ist die Abgrenzung der einzelnen Metalle schlecht. Unterhalb  $220^{\circ}\text{C}$  Säulentemperatur kommt es zu einer starken Verbreiterung der Peaks. Einzig die Abtrennung des Cu vom Cd ist bei  $230 - 250^{\circ}$  mit ca 0,3 min ungünstig. Sie läßt sich auch durch Senkung der Säulentemperatur nicht viel verbessern.

Weitere Störungen: Mit Eisen lassen sich fragliche Peaks bei 0,8 und 1,45 bis 2,45 min erzielen. Dabei ist nicht auszumachen, ob es sich um Fe(II)- oder Fe(III)- Komplexe oder um Zersetzungsprodukte handelt. Diese Peaks können bei hohen Konzentrationen an Eisen das Chromatogramm sehr verschlechtern.

Thallium ist nur bei wesentlich niedrigeren Temperaturen um  $180^{\circ}\text{C}$  nachweisbar. Bei  $250^{\circ}\text{C}$  ist es nicht vom Anfangspeak zu trennen.

Silber ist bei den obengenannten Bedingungen ( auf Cd optimiert ) nicht nachzuweisen.

Diskussion: Von Eigenschaften wie Flüchtigkeit und Temperaturstabilität ( siehe Seite 28 bis 30 ) kann nicht in jedem Fall auf die Eignung zur Gaschromatographie geschlossen werden, wie einige Beispiele zeigen: Bei Zink, das bei der Thermogravimetrie sehr brauchbar erscheint, treten in hohem Maße Adsorptionseffekte auf. Palladium, das nur wenig flüchtig ist, läßt sich chromatographisch sehr gut darstellen. Ein weiteres Beispiel ist das Arsen, das im übrigen bei wesentlich niedrigeren Temperaturen als Cadmium chromatographiert wird. Daughtrey, Fitchett und Mushak (31) stellen fest, daß Arsenkomplexe ähnlich wie Cadmium eine sehr starke Adsorptionsneigung aufweisen, die eine gründliche Silanisierung der Säule und gutes Trägermaterial verlangt.

Gute Trennbedingungen ergeben sich für das Standardtempera-

turprogramm. Eine sichere Identifikation des Cd ist möglich. Die schlechte Auflösung der Cd- und Cu- Peaks erfordert eine vorherige Abtrennung des Cu, wenn es im Überschuß zu Cd vorliegt. Bei geringeren Cu- Mengen ist dies nicht notwendig.

## 2.8. Entfernung störender Metalle:

Problemstellung: Die Entfernung des Cu aus den Organproben muß wirkungsvoll sein, ohne jedoch die Ausbeute an Cd oder auch anderen Metallen zu verringern. Die unterschiedliche Komplexstabilität soll ausgenützt werden.

### Versuche und Ergebnisse:

- Säureausschüttlung: Koch und Koch (36) weisen darauf hin, daß eine Zerstörung des  $\text{Cu(DEDTC)}_2$ - Komplexes durch Ausschütteln des Chloroformextraktes mit Salzsäure möglich ist. Ein jeweils 10 ppm Cd, Cu und Pd enthaltender Komplexextrakt in  $\text{CHCl}_3$  wird für mehrere Minuten in 10 n HCl ausgeschüttelt. Nach 1 bis 2 min entfärbt sich der braune Extrakt. Das Chromatogramm zeigt, daß der Cd- Komplex ebenfalls zerstört ist. Einzig der Pd- Komplex bleibt quantitativ erhalten, wie eine nicht ausgeschüttelte Blindprobe zeigt.
- Reduktion: Da der DEDTC- Komplex durch das zweiwertige Kupferion gebildet wird, soll versucht werden, durch Reduktion mit Hydrochinon die Komplexierung zu verhindern. Zu einer mit Hydrochinon versetzten Cu- Lösung wird eine geringe Menge Na- DEDTC zugegeben. Es kommt zur Bildung des braunen Cu- Chelats, das sich auch vollständig in  $\text{CHCl}_3$  extrahieren läßt.
- Maskierung durch Bildung von Tetrammin- Komplexen: Der unter  $\text{NH}_3$ - Zusatz gebildete blaue Tetramminkomplex ver-

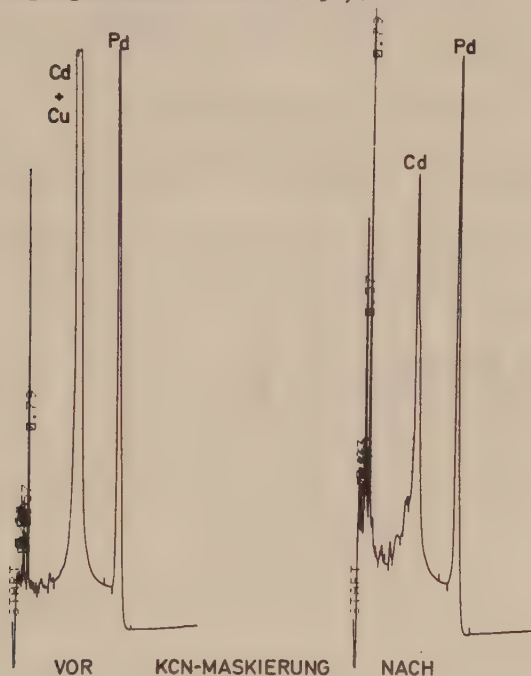
schwindet nach Na- DEDTC- Zugabe unter Bildung von  $\text{Cu(DEDTC)}_2$ .

- Dithizon: Bei pH- Werten unter 3 soll Cu quantitativ extrahierbar sein, während Cd erst im schwächer Sauren extrahiert wird (36). Beim Ausschütteln einer Lösung von pH 2 zeigt sich jedoch, daß es auch dort schon zu einer teilweisen Extraktion von Cd kommt.
- Maskierung des Cu durch KCN: Da auf die Maskierung von Cu in sauren Proben verzichtet werden muß, wird der gewonnene Extrakt mit einer wässrigen KCN- Lösung ausgeschüttelt. Ein  $\text{CHCl}_3$ - Extrakt mit jeweils 10 ppm Cd, Cu und Pd wird mit einer 1 % igen KCN- Lösung rückgeschüttelt. Nach einigen Minuten tritt eine deutliche Entfärbung ein. Gaschromatographisch zeigt sich ein fast vollständiges Verschwinden des Cu- Komplexes. Siehe Abbildung 20. Verluste an Cd und Pd treten im Vergleich zu Leerproben nicht auf.

#### Diskussion:

Von den untersuchten Methoden ist die KCN- Maskierung zur Entfernung von Kupfer geeignet. Jedoch ist sie nur notwendig, falls der Cu- Peak den Cd- Peak übersteigt und die Auswertung stört. Weitere in der Literatur erwähnte Methoden zur Cu- Entfernung wie die Vorextraktion mit Cupferron (36) oder die Verwendung von Thiocyanaten (36) werden nicht durchgeführt. Hingewiesen sei auch auf die Anwendung von Ionenaustauschern (20) wie Chelex 100 (19) oder Dowex 50 X 8 (7) zur Trennung beider Metalle. Das bei manchen Analysen störende Fe(II) oder Fe(III) könnte mit Phenanthrolin maskiert werden (12, 36).

Abb. 20: Cu- Maskierung mit KCN ( Chromatographierbedingungen siehe Seite 119 ):



## 2.9. Quantitative Cadmiunbestimmung, Innerer Standard, Eichkurve u. Nachweisgrenze mit N-FID u. Glassäule:

Problemstellung: Für die quantitative Cd- Bestimmung in biologischem Material wird ein innerer Standard benötigt. Er macht die Auswertung unabhängig von Konzentrationsänderungen, die bei den einzelnen Aufbereitungsschritten auftreten. Der innere Standard soll:

- Möglichst am Anfang der Probenaufbereitungsschritte zugesetzt werden, damit man auf die Messung der Volumenände-

rungen verzichten kann.

- Der gleichen Substanzklasse wie der nachzuweisende Stoff angehören, d. h. ein Metall sein, das ebenfalls DEDTC- Komplexe bildet.
- Ebenfalls vollständig extrahierbar sein.
- Ähnliche chromatographische Eigenschaften aufweisen, d. h. ein  $\text{Me(DEDTC)}_2$ - Komplex eines 2 wertigen Metalls sein.
- In den zu untersuchenden Proben nicht vorkommen, d. h. ein im biologischen Bereich sehr seltenes Metall sein. Sonst gelangt man zu falsch niedrigen Meßwerten.

Versuche und Ergebnisse: Von den mit DEDTC extrahierbaren Metallen kommen nur wenige in Frage, darunter Palladium. Sein DEDTC- Komplex ist zweiwertig. In biologischem Material kommt es in nachweisbaren Mengen nicht vor.

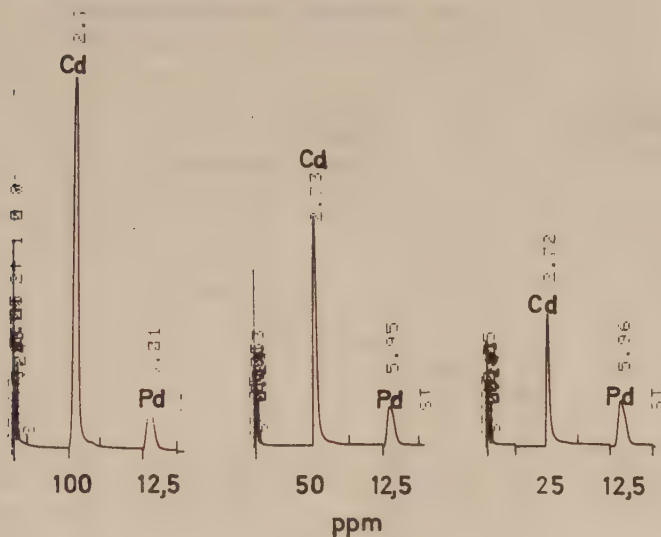
Extraktionsverhalten des Pd: Nach Koch und Koch (36) ist eine vollständige Extraktion von pH 2 bis 14 möglich.

Eine Überprüfung der pH- Abhängigkeit ergibt:

- Von pH 3 - 5,5 ist die Extraktion vollständig. Die Komplexe sind stabil.
- Im schwach Sauren und Alkalischen ist für eine vollständige Extraktion der Zusatz eines Hilfskomplexbildners, z. B. Tartrat notwendig.
- Auch bei Anwesenheit von Cd ist die Extraktion vollständig. Die beiden Metalle und auch die anderen untersuchten Metalle beeinflussen ihre gegenseitige Ausbeute bei ausreichendem Na- DEDTC- Überschuß nicht.

Chromatographie des Pd: Es läßt sich bei den für Cd günstigen Bedingungen sehr gut darstellen. Die Abbildung 21 zeigt gemeinsam extrahiertes Cd und Pd in verschiedenen Konzentrationen.

Abb. 21: Gemeinsam extrahiertes Cd und Pd in verschiedenen Konzentrationen. ( Bedingungen: s. S. 119 ):

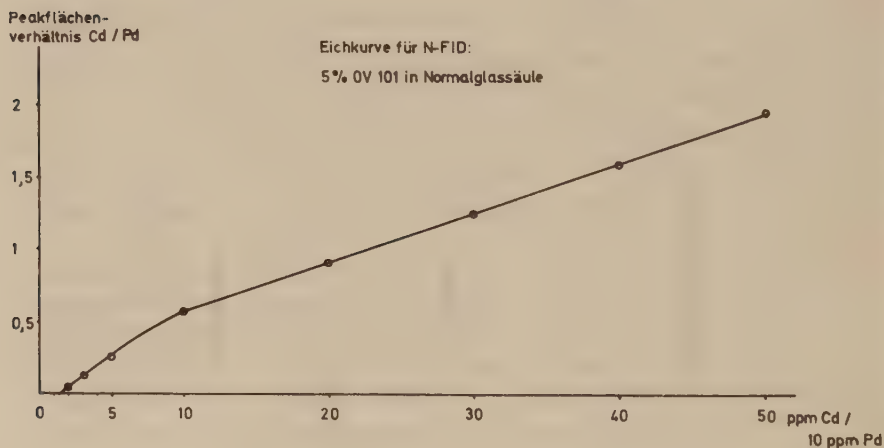


Im Gegensatz zum Cd ist der Pd- Komplex sehr stabil. Es kommt weder an den Reagenzglaswänden, noch an der Säule zu einer nennenswerten Adsorption. Mit einem N- FID und Glassäule läßt sich Pd bis mindestens 10 ppb nachweisen. Die Detektorantwort ist über einen sehr großen Bereich linear ( bis 50 ppb ). Palladium ist also als innerer Standard sehr gut geeignet.

Eichkurve mit N- FID und Glassäule: Bei Verwendung von nicht silanisierten Reagenz- und Aufbewahrungsgefäßen ist die Eichkurve bis ca. 40 ppm linear. Darunter fällt sie steil ab. Eine Eichkurve bei Verwendung von silanisierten Gefäßen zeigt Abbildung 22. Hier reicht der lineare Kurvenbereich bis ca. 10 ppm. Unterhalb davon fällt sie schnell ab. Bis ca. 1 ppm - 2ppm läßt sich Cd nachwei-

sen, jedoch nicht quantitativ reproduzierbar.

Abb. 22: Eichkurve für N-FID und Glassäule:  
( Arbeitsbedingungen vgl. Seite 93 ).



Diskussion: Die unzufriedenstellende Empfindlichkeit für Cd wird sicher durch das Verhalten seines Komplexes in der Säule verursacht. Denn die Ansprechempfindlichkeit des Detektors ist in diesem Bereich noch nicht erreicht, wie Pd zeigt. Für Grenzflächenreaktionen in der Säule spricht ebenfalls eine Verlängerung der Retentionszeit von Cd in Konzentrationsbereichen um und unter 3 ppm. Sie beträgt ca. 20 - 30 Sekunden bei 3,5 min Retentionszeit.

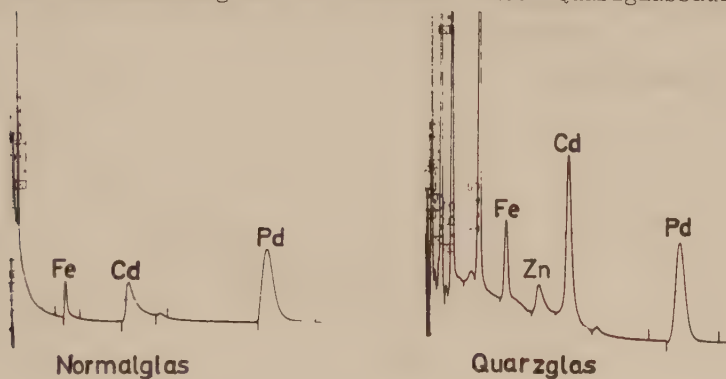
#### 2.10. Empfindlichkeitsverbesserung durch Quarzglassäule, Eichkurve und Nachweisgrenze für Cadmium:

Da eine Verbesserung des Säulenmaterials oder der Aufbewahrungsgefäße nicht möglich ist, soll durch Verwendung einer Säule aus Quarzglas versucht werden, die Adsorption zu ver-

ringern.

Versuche und Ergebnisse: Die Quarzglassäule wird vor dem Befüllen mit DMCS vorbehandelt wie die anderen Säulen auch. Abbildung 23 zeigt eine Probe von 10 ppm Cd und 10 ppm Pd auf 5 % OV 101, einmal bei Verwendung einer Normalglassäule, einmal mit einer Quarzglassäule. Die sonstigen Arbeitsbedingungen sind gleich ( siehe Seite 119 ).

Abb. 23: Verbesserung der Cd- Ausbeute durch Quarzglassäule:



- Die Ausbeute an Cd ist bei derselben Probe bei Verwendung einer Quarzglassäule deutlich besser. Sie ist bei 10 ppm 3 fach höher; bei 5 ppm ca 10 fach höher.
- Die Ausbeute an Zn, als eingeschleppte Spur, ist ebenfalls deutlich erhöht.

Die Verbesserung des Cd- Nachweises ist somit auf die Verringerung von Grenzflächenreaktionen zurückzuführen.

#### Eichkurve auf Quarzglassäule:

Säule: 5 % OV 101; Länge: 1 m; Standardtemperaturprogramm ( siehe Seite 79 ); Trägergas: He 23 ml/min;  
Detektor: N- FID; Probenvolumen: 1  $\mu$ l mit mechanischem

Probengeber;

Es werden Dreifachbestimmungen durchgeführt:

Extraktion mit  $\text{CHCl}_3$ , Eindampfen, Aufnehmen in Äthylacetat; Verwendung silanisierter Gefäße. Die Berechnung erfolgt anhand der vom Integrator ermittelten Peakflächen. Die Steigungsempfindlichkeit des Rechners wird nach Optimierung fest eingestellt. Abbildung 24 zeigt den unteren Abschnitt der Eichkurve.

Abb. 24: Eichkurve für N- FID und Quarzglassäule, unterer Abschnitt:

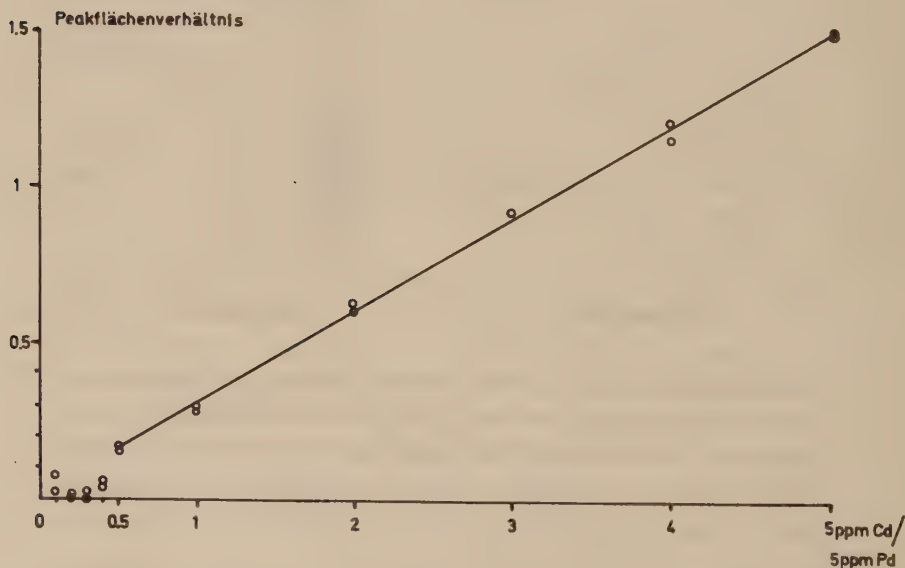


Abbildung 25 stellt die Eichkurve in doppelt logarithmischer Auftragung dar.

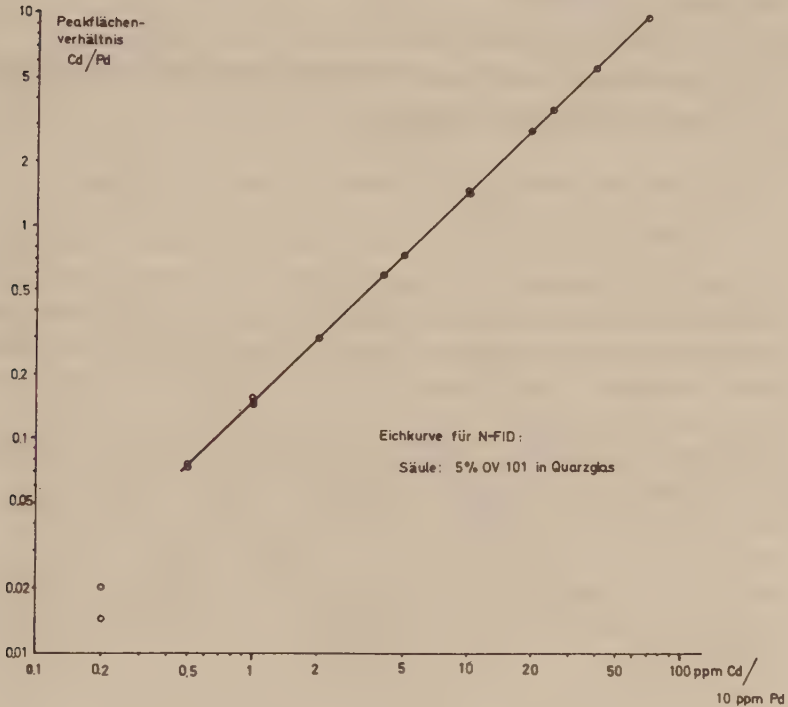
Regressionsgerade für den linearen Arbeitsbereich:

$$y = 1,476 x + 0,035;$$

Korrelationskoeffizient:

$$r = 0,98;$$

Abb. 25: Doppelt logarithmische Darstellung der Eichkurve:



Mit der Quarzsäule läßt sich eine lineare Beziehung bis herab zu 500 ppb erzielen. Unterhalb davon fällt die Kurve deutlich ab. Ein Nachweis von Cd ist auch bei 50 - 100 ppb, d. h. 50 - 100 pg Cd- Metall je Probe möglich aber er ist nicht quantitativ.

Diskussion: Für die praktische Anwendung bedeutet dies eine

Erweiterung des Arbeitsbereiches um Faktor 20 im Vergleich zur Normalglassäule. Durch geeignete Konzentrierung der organischen Extrakte ( siehe dazu Seite 110 ) oder Erhöhung des Probenvolumens lassen sich auch noch niedrigere Konzentrationen nachweisen.

### VI.3. Anwendung der gaschromatographischen Cadmiumbestimmung bei biologischem Material

#### 3.1. Zu erwartende Cd- Konzentrationen in Organen und Körperflüssigkeiten:

Als dem Speicherorgan für Cadmium kommt der Niere eine besondere Bedeutung zu, z. B. auch bei der Festlegung der tatsächlichen Körperbelastung ("body burden" (20)). Ebenfalls hohe Konzentrationen finden sich in der Leber. Die Werte in Blut oder Urin liegen um einen Faktor  $10^3 - 10^4$  niedriger. Der Vergleich zwischen den von verschiedenen Autoren ermittelten Werten für Organe wird dadurch erschwert, daß die Konzentrationen teils auf Naßgewicht, teils auf Trockengewicht, teils auf Asche bezogen sind (20). Die folgende tabellarische Zusammenstellung gibt einen Überblick über die von verschiedenen Autoren gefundenen Cd- Konzentrationen: Angaben in ppm bzw. ppb / Naßgewicht.

|                    | Niere:             | Leber:            | Blut:                    | Urin:                          |      |
|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------------|------|
| Normalbevölkerung: | 5-50ppm            | 0,5-5 ppm         | Neuere Werte: 0,5- 5 ppb | 0,5-50ppb<br>$\bar{x} = 1$ ppb | (20) |
|                    | 3-15ppm            | 0,5-4ppm          | 10-20 ppb                |                                | (24) |
|                    | $\bar{x} = 35$ ppm | $\bar{x} = 4$ ppm |                          |                                | (3)  |

|                      | Niere:        | Leber:                  | Blut:      | Urin:     |      |
|----------------------|---------------|-------------------------|------------|-----------|------|
| Normalbevölkerung:   | 0-50ppm       | 0-7 ppm                 |            |           | (16) |
|                      |               | $\bar{x} = 1,25$<br>ppm |            |           | (15) |
| Cd- Expo-<br>nierte: | 50-100<br>ppm | 50-300<br>ppm           | ca. 50 ppb | 0-500 ppb | (20) |
|                      |               | 35-200<br>ppm           |            |           | (27) |

Weitere Organwerte sind:

Pankreas: unter 2 ppm; Lunge: 0,25 - 0,35 ppm (20);

Haare: 0,5 - 3,5 ppm (20). Auf eine teilweise gute Korrelation zwischen Exposition und Konzentrationen wird hingewiesen (20, 21).

Bei Leber und Niere sind die verschiedenen Werte durchaus miteinander vergleichbar, wenn man die unterschiedliche Umweltbelastung in den einzelnen Ländern berücksichtigt. Nach Friberg bestehen für Blut große Diskrepanzen zwischen den Werten einzelner Autoren (20). Sie sind z. T. auch durch methodische Fehler verursacht. Bei Urin gibt es ebenfalls eine sehr breite Streuung (20).

Nach Friberg gibt es bisher keine Daten, die die Abschätzung von Organkonzentrationen aus den Blutwerten belegen. (20). Zusammenhänge zwischen der Exposition und Urinkonzentrationen bei Nierengesunden lassen sich für größere Kollektive, nicht jedoch für den Einzelfall herstellen. Es erscheint also als gerechtfertigt, Nieren- oder Leberkonzentrationen als ein Maß für die chronische Exposition und damit für die Umweltgefährdung heranzuziehen.

### 3.2. Druckaufschluß, gaschromatographische und atomabsorptionsspektrometrische Cadmiumbestimmung in Niere und Leber:

Problemstellung: Vorteil der Naßveraschung durch Druckaufschluß gegenüber der Trockenveraschung ist eine niedrige Arbeitstemperatur und damit geringere Verflüchtigungsgefahr besonders für Cadmium. Es kommt im allgemeinen nicht zur Adsorption oder Reaktion mit dem Gefäßmaterial (36). Vorteil gegenüber einem enzymatischen Aufschluß ( s. S. 107 ) ist eine vollständige Mineralisierung und Zerstörung der organischen Matrix. Einfluß auf die Ausbeute hat sicher auch die chemische Form, in der Cadmium in der Probe vorliegt, z. B. Organocadmium oder freies ionisiertes Cadmium. Nach Koch und Koch ist auch mit dem Entstehen unlöslicher Verbindungen zu rechnen (36). Zusammenfassend gilt also, daß man bei allen genannten Aufschlußverfahren zur Schwermetallspurenanalyse mit der Möglichkeit der Spureneinschleppung durch Reagenzien oder des Verlusts durch Adsorption, Fällung oder Verflüchtigung zu rechnen hat.

Versuche und Ergebnisse: Der Druckaufschluß erfolgt mit 65 % iger Salpetersäure in einem Teflontiegel ( Uniseal-Aufschlußgefäß ) bei 120°C über mindestens 5 Stunden.

Ansatz ( Für eine ausführliche Beschreibung siehe dazu die zusammenfassende Arbeitsanleitung auf Seite 114 ):

Die Organprobe wird abgewogen, 1 + 1 mit einem Essigsäure-Acetatpuffer versetzt ( jeweils 1 Tl. 0,2 n Essigsäure + 1 Tl. 0,2 n Na- Acetat ) und mit einem Rührer homogenisiert. Das Verhältnis des Homogenats zur Salpetersäure sollte für einen vollständigen Aufschluß 1 + 1,5 Teile betragen. Das vom Hersteller angegebene Probenvolumen für das Aufschlußgefäß darf nicht überschritten werden. Besonders bei Organ-

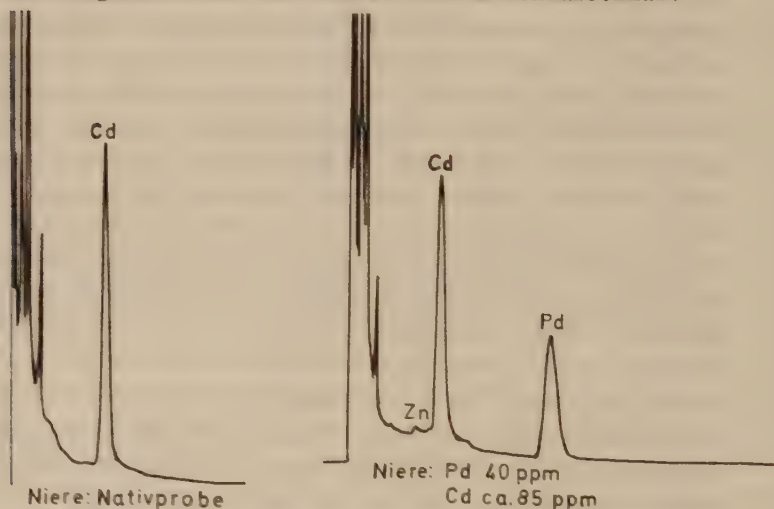
proben mit einem hohen Gehalt an Triglyceriden ist mit dem Entstehen geringer Mengen an Nitroglycerin oder ähnlichen Verbindungen zu rechnen.

Mit dieser Vorschrift läßt sich ein vollständiger Aufschluß von Leber- und Nierenproben erzielen. Der Volumenverlust beträgt maximal 5 - 10 %. Die weitere Probenverarbeitung erfolgt zur Vermeidung von Grenzflächenreaktionen in vorsilanisierten Reagenzgläsern. Der Zusatz des inneren Standards soll nach Maßgabe der zu erwartenden Cd- Konzentration erfolgen. Das Konzentrationsverhältnis der beiden Metalle sollte aus Gründen der Meßgenauigkeit einen Faktor 5 nicht übersteigen. Die pH- Einstellung wird mit 10 % iger NaOH durchgeführt ( auf pH 4 - 5 ). Eine Vorextraktion der Proben wird mit  $\text{CHCl}_3$  im Verhältnis 1 : 1 durchgeführt. Die gaschromatographische Untersuchung einer Reihe von Vorextrakten bringt keine darstellbaren Substanzen hervor. Um festzustellen, ob etwa flüchtige Metallverbindungen sich vorextrahieren lassen, werden Vorextrakte mit einer wässrigen Lösung von Na- DEDTC ausgeschüttelt. Es können gaschromatographisch ebenfalls keine Substanzen nachgewiesen werden. Jedoch besteht immer noch die Möglichkeit, daß es in den Proben zu in  $\text{CHCl}_3$  löslichen Metallverbindungen ( Me- Nitrate, Jodide, Fluoride ) kommt, die sich gaschromatographisch nicht nachweisen lassen und auch keine DEDTC- Komplexe bilden. Die Extraktion wird mit einer 1 % igen frischen Na- DEDTC- Lösung durchgeführt. Der Überschuß an Komplexbildner soll ein 10 faches der höchsten zu erwartenden Gesamtmetallkonzentration betragen. Um eine vollständige Extraktion zu gewährleisten, wird mindestens 2 mal mit  $\text{CHCl}_3$  und Na- DEDTC ausgeschüttelt. Die Phasentrennung ist ebenso gut wie bei wässrigen Probelösungen. Ein Zentrifugieren oder Filtrieren erübrigt sich. Anschließend wird eingedampft und in Äthylacetat aufgenommen. Das Endvolumen soll ungefähr der

Probenausgangsmenge entsprechen. Doch kann, falls erforderlich etwa um das 5 fache konzentriert werden. Die gaschromatographische Darstellung soll möglichst bald nach der Herstellung erfolgen; Obwohl für derartige Proben bei Kühlschranklagerung eine Haltbarkeit von mindestens 1 bis 2 Wochen nachgewiesen werden kann. Die Chromatographie erfolgt bei Standardtemperaturbedingungen für Cd und Pd ( s. S. 119 ) auf einer 1 m langen Quarzglassäule mit 5 % OV 101 als Füllmaterial. He- Flow: 23 ml/ min; Probenmenge: 2  $\mu$ l;

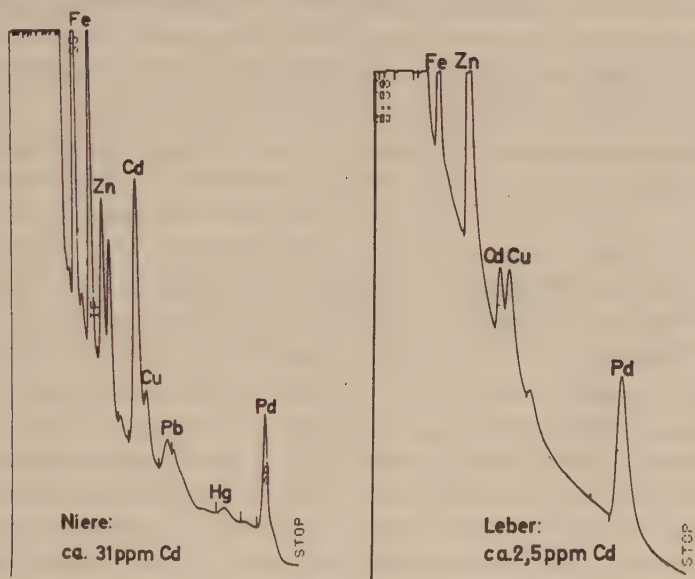
Die Chromatogramme einiger Nieren- und Leberextrakte sind in den Abbildungen 26 und 27 dargestellt.

Abb. 26: Organextrakte von Nieren nach Druckaufschluß:



Cd und Pd können eindeutig identifiziert werden. Die Cd- Bestimmung erfolgt durch die Ermittlung des Peakflächenverhältnisses. Anhand der eingesetzten Pd- Menge und der Eichkurve erfolgt die weitere Auswertung.

Abb. 27: Organextrakte von Niere und Leber:



Beobachtungen zur Aufbereitung und Chromatographie von Organproben:

- Der Pd- Zusatz muß nach dem Probenaufschluß erfolgen. Denn bei vorheriger Zugabe kommt es zu fast vollständigen Verlusten an Pd. Es entstehen wahrscheinlich unter der Einwirkung von konz. Salpetersäure und Wärmezufuhr vierwertige Pd- Verbindungen wie z. B.  $\text{Pd}^{4+}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})_2$  (30). Diese 4 wertigen Pd- Verbindungen können keine DEDTC- Komplexe bilden. Wird Pd nach dem Aufschluß zugesetzt, kann es vollständig wiedergewonnen werden.
- Cd- Verluste durch den Druckaufschluß treten nicht auf. Vorher zugesetztes Cd kann vollständig extrahiert werden. Offen bleibt aber die Frage, wieviel des ursprünglich vorhandenen Cd in extrahierbare Cd- Komplexe über-

führt wird. Es finden sich in der Literatur keine Hinweise auf das Entstehen unlöslicher Cd- Verbindungen. Dieser Sachverhalt kann auch durch AAS- Messungen nicht überprüft werden, da sich ausgefällte Cd- Verbindungen diesem Meßverfahren ebenfalls entziehen würden.

- Eine vorausgehende Leerextraktion ist meist überflüssig ( im Falle einer Arzneistoffintoxikation evtl. sinnvoll, s. S. 108 ). Sie führt zu keiner Verbesserung der Chromatogramme. Wird sie dennoch durchgeführt, soll sie nach der pH- Einstellung erfolgen, da im stark Säuren möglicherweise extrahierbare Metallverbindungen auftreten könnten. Sie werden jedoch, wie erwähnt, nicht nachgewiesen.
- Die Extraktion von frei gelöstem Cd und Pd ist bei genügender Na- DEDTC- Menge vollständig. Es kommt zu keiner Störung durch andere Metalle. Die wässrige Probenphase, die durch die verschiedenen Metallkomplexe eine dunkelbraune Farbe annimmt, klärt sich völlig. Eine AAS- Messung des wässrigen Überstandes läßt kein Cd mehr nachweisen.
- Neben Cd und Pd werden eine Reihe anderer Metalle dargestellt, so z. B. Fe, Zn, Cu, Pb, Hg, Co. Fe ist schon an der graubraunen Farbe des Extraktes zu erkennen. Auf die Möglichkeit der Maskierung von störendem Fe mit Phenanthrolin wird auf Seite 88 hingewiesen.
- Die Retentionszeit ist ein zuverlässiges Maß zur Identifikation der einzelnen Metalle.

#### Überprüfung der gaschromatographischen Messungen mit der AAS:

Gerät: Perkin- Elmer 300 SG;

Deuteriumkompensation

Graphitrohrküvette: Perkin- Elmer HGA 72

Arbeitsbedingungen (50): Wellenlänge 228,8 nm;

Schutzgas: Stickstoff;

|                        |        |              |
|------------------------|--------|--------------|
| Trocknung:             | 100°C  | 30 sec.      |
| Thermische Zersetzung: | 350°C  | 30 sec.      |
| Atomisierung:          | 1800°C | 10 - 30 sec. |

Die Eichkurve wird mit salpetersauren Standardproben der gleichen Säurekonzentration wie die Organproben hergestellt. Zu den zahlreichen Störeinflüssen sei auf den Abschnitt über die AAS- Messung ( Seite 18 ) und die umfangreiche Literatur verwiesen.

#### Leber- und Nierenmessungen:

Gemessen werden sowohl die Aufschlußprodukte , als auch ihre DEDTC- Extrakte in Äthylacetat in einer 50 bis 100 fachen Verdünnung. Durch Verdopplung der Probenmengen oder Mischung von Proben und Standards kann gezeigt werden, daß bei den Aufschlüssen mit  $\text{HNO}_3$  keine Matrixeffekte auftreten. Die Tabelle gibt einen Vergleich der Meßergebnisse mehrerer Organproben:

|                        |                              |                              |                              |
|------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                        | ♀ 43 Jahre                   | ♂ 39 Jahre                   | ♂ 57 Jahre                   |
| Todesursache:          | Barbiturat-<br>vergiftung    | Autounfall                   | Aorten-<br>aneurysma         |
| Untersuchtes<br>Organ: | Niere                        | Niere                        | Niere                        |
| <u>GC- Messung:</u>    | $\bar{x} = 84,5 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 5,47 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 30,8 \text{ ppm}$ |
| <u>AAS- Messung:</u>   | $\bar{x} = 84,9 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 5,5 \text{ ppm}$  | $\bar{x} = 30,2 \text{ ppm}$ |
|                        | ♂ 44 Jahre                   | ♀ Jahre                      | ♀ 68 Jahre                   |
| Todesursache:          | Schädel-<br>fraktur          | Barbiturat-<br>vergiftung    | Rechtsherz-<br>versagen      |
| Untersuchtes<br>Organ: | Niere                        | Niere                        | Niere                        |
| <u>GC- Messung:</u>    | $\bar{x} = 4,38 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 5,74 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 14 \text{ ppm}$   |
| <u>AAS- Messung:</u>   | $\bar{x} = 4,25 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 5,4 \text{ ppm}$  | $\bar{x} = 14,3 \text{ ppm}$ |

|                      | ♂ 47 Jahre                   | ♂ 39 Jahre                  |
|----------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Todesursache:        | Autounfall                   | Autounfall                  |
| Untersuchtes Organ:  | Leber                        | Leber                       |
| <u>GC- Messung:</u>  | $\bar{x} = 2,25 \text{ ppm}$ | $\bar{x} = 1,2 \text{ ppm}$ |
| <u>AAS- Messung:</u> | $\bar{x} = 2,5 \text{ ppm}$  | $\bar{x} = 1 \text{ ppm}$   |

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Übereinstimmung zwischen den mit dem Gaschromatographen und mit der Atomabsorptionsspektrometrie erzielten Ergebnissen zufriedenstellend ist.

Die Wiederholbarkeit bei mehrmaliger Messung derselben Einzelprobe ist ebenfalls ausreichend: ( GC- Bestimmung )

$$x_1 = 5,45; x_2 = 5,33; x_3 = 5,6; x_4 = 5,65; x_5 = 5,5 \text{ ppm};$$

$$x_6 = 5,55; x_7 = 5,5; x_8 = 5,41; x_9 = 5,46; x_{10} = 5,42 \text{ ppm};$$

Die Wiederholbarkeit liegt bei 3 bis 5 %.

Diskussion: Es kann gezeigt werden, daß die gaschromatographische Cadmiumbestimmung mit DEDTC für die Untersuchung von Organproben wie Leber- oder Nierengewebe geeignet ist.

Ähnlich wie das Cd/ Pd- Verhältnis kann auch das Cd/ Zn- Verhältnis bestimmt werden. Diese Werte können ebenfalls zur Untersuchung des Cd- Stoffwechsels herangezogen werden (20, 53, 58, 59).

### 3.3. Mineralisierung mit quaternärem Ammoniumhydroxid:

Das quaternäre Ammoniumhydroxid Lumatom<sup>R</sup> soll eine schnelle und vollständige Auflösung von Gewebeproben, Blut u. s. w. ermöglichen (41). Es ist im Gegensatz zum Druckaufschluß ein gefahrloses Arbeiten möglich (41). Außerdem ist eine

Begrenzung des Probenvolumens durch die Gefäßkapazität nicht gegeben.

Versuche und Ergebnisse: Nach Herstellerangaben können bis zu 0, 25 g nasses Gewebe mit 1 ml Lumatom in 10 - 24 Stunden aufgeschlossen werden (41).

- Versuche mit Nierenproben ergeben, daß es auch bei größeren Lumatommengen bezogen auf die Organsubstanz innerhalb mehrerer Tage nicht zur vollständigen Auflösung kommt.
- Bei AAS- Messungen läßt sich im Gegensatz zu Beobachtungen anderer Autoren (45) eine Cd- Ausbeute von maximal 45 % im Vergleich zum Druckaufschluß erzielen.

Diskussion: Ursachen für die schlechte Cd- Ausbeute:

- Unvollständige Zerstörung der organischen Matrix, so daß noch organisch gebundenes Cadmium vorliegt.
- Bildung unlöslicher Verbindungen, z. B. Hydroxidfällung im stark Alkalischen. Diese Fällung ließe sich vielleicht durch den Zusatz eines Hilfskomplexbildners vermeiden. Andererseits erscheint die Lumatommethode gerade für Proben wie Leber und Niere wenig geeignet, da keine vollständige Mineralisierung erzielt wird.

#### 3.4. Cd- Metallothioneinbindung, Enzymatischer Aufschluß mit Subtilisin:

Problemstellung: 1957 entdeckten Margoshes und Vallee ein Cd- enthaltendes Protein in der Nierenrinde von Pferden (33). Es wurden daraufhin viele weitere Untersuchungen über die Cd- Eiweißbindung in tierischen und menschlichen Organen angestellt (20, 54, 64). Dabei konnte eine Vielzahl ähnlicher nicht nur Cadmium bindender Eiweiße nachgewiesen und

charakterisiert werden. Auch in menschlichen Organen wurde ein entsprechendes Protein, das wegen seines hohen Cd-Zn- und Schwefelgehaltes Metallothionein genannt wird, von Pulido, Kägi und Vallee 1966 gefunden. Charakteristisch ist das niedrige Molekulargewicht..Nach neueren Messungen liegt es bei 6000 - 7000. Es finden sich keine aromatischen Aminosäuren in dem Protein. Der hohe Schwefelgehalt beruht auf einem großen Prozentsatz an Cystein. Außerdem konnte gezeigt werden, daß Metallothionein nicht nur Zn und Cd bindet. Beispielsweise ist die Bindung von Hg an das Protein wesentlich stärker als die der beiden anderen Metalle. Metallothionein dient als Trägereiweiß für Cd. Es wird in der Leber gebildet und zur Niere transportiert. Aufgrund seines niedrigen Molekulargewichts wird es glomerulär filtriert und dann tubulär reabsorbiert. Dies führt zu den im Vergleich zu anderen Organen hohen Nierenrindenkonzentrationen und bei Vergiftung zur Nieren-Schädigung. Zahlreiche tierexperimentelle Arbeiten beschäftigen sich mit dem Metabolismus dieser metallbindenden Proteine (23, 48, 52, 58, 59). Im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit interessiert jedoch mehr die Frage, inwieweit das in Organen vorhandene Cd an Metallothionein gebunden ist oder als freies Kation vorliegt und somit direkt der Messung zugänglich ist. Dazu sollen die Proben mit einer möglichst unspezifischen Protease aufgespalten werden.

Subtilisin ist ein aus *Bacillus licheniformis* hergestelltes Enzym mit geringer Spezifität und folglich hoher Aktivität (61). Es wird hauptsächlich beim Nachweis von Pharmaka, die eine hohe Eiweißbindung aufweisen, angewandt und erhöht so die Extraktionsausbeute. Inwieweit es die Freisetzung von Cd aus Metallothionein oder anderen Eiweißen ermöglicht, ist aus den Herstellerangaben über das Enzym und den Untersuchungen über die Struktur des Metallothio-

nein nicht abzuschätzen.

### Versuche und Ergebnisse:

- Um festzustellen, wieviel Cd in Organen frei extrahierbar vorliegt, wird eine Nierenprobe aus einem Organ, das nach Säureaufschluß in der Bombe ca. 80 ppm Cd ( gemessen mit GC ) enthält, homogenisiert. Dabei kommt 1 Teil Probe auf 3 Teile Essigsäure- Acetatpuffer. Nach Zugabe von Pd und Vorextraktion wird unter Zusatz von Na- DEDTC mit  $\text{CHCl}_3$  2 - 3 min extrahiert. Wegen der Bildung von Proteingel mit dem  $\text{CHCl}_3$  ist die Phasentrennung schlecht. Deshalb wird zentrifugiert und anschließend filtriert. Im Gegensatz zum Druckaufschluß läßt sich mit dem Gaschromatographen kein Cadmium nachweisen. Das einer Vergleichsprobe zugesetzte Cd ( 20 ppm ) kann bei gleichem Vorgehen wiedergewonnen werden.
- Subtilisin- Aufschluß:( Für eine ausführliche Arbeitsanleitung siehe Seite 117 ). 6 g eines Nierenhomogenats in demineralisiertem Wasser ( 1 Tl. + 1 Tl. ) werden mit 6 ml 1 m Trisbasepuffer versetzt ( Optimaler Arbeitsbereich für Subtilisin ). Anschließend wird Pd- Standard nach Maßgabe und ca. 3 mg krist. Subtilisin zugegeben. Der enzymatische Aufschluß erfolgt bei 50°C mit einem Magnetrührer. Dauer ca. 1 Stunde. Es kommt zu einer guten Auflösung fester Bestandteile. Anschließend wird mit konzentrierter Essigsäure angesäuert ( Extraktions- pH 4 - 5 ). Bei der folgenden Vor- und Hauptextraktion mit  $\text{CHCl}_3$  wird zur vollständigen Phasentrennung zentrifugiert.

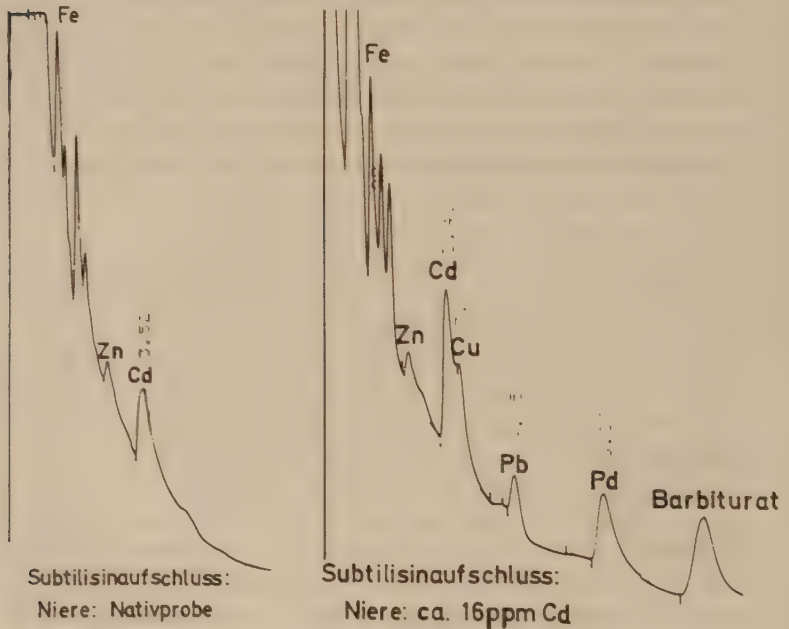
Mit der AAS kann Cd nachgewiesen werden ( ca. 60 % der vergleichbaren Druckaufschlußprobe ).

Gaschromatographisch läßt sich weder Cd noch Pd darstel-

len. Die Messung einer Probe, der vorher Cd zugesetzt wurde, erbringt ebenfalls keinen Nachweis des Metalls.

- Zur Vermeidung der offensichtlichen Fällung im Alkalischen wird Na- Tartrat als Hilfskomplexbildner zugesetzt ( ca. 1 ml 2 g% iges Na- Tartrat ). Abbildung 28 zeigt einige der erzielten Chromatogramme.

Abb. 28: Cd- Nachweis mit DEDTC nach enzymatischem Aufschluß von Organproben: ( siehe Seite 117 )



Neben mehreren anderen Metallen lassen sich auch Cd und Pd nachweisen. Der Vergleich mehrerer so gewonnener Proben mit den korrespondierenden Druckaufschlußproben ergibt, daß die Ausbeute sich in einem Bereich von 85 bis 100 % bewegt. Auch hier ergibt sich, daß eine Vorextraktion

tion die Qualität der Chromatogramme nicht wesentlich verbessert. Nur im Fall einer Nierenprobe kommt es zum Auftreten weiterer störender Peaks, die anhand ihrer Retentionszeit nicht zu identifizieren sind. Da es sich jedoch um eine Barbituratvergiftung handelt, ist anzunehmen, daß diese Substanzen bei der angewandten Aufschlußmethode nicht zerstört werden und deshalb im Chromatogramm auftreten ( siehe Abbildung 28 ).

Diskussion: Der Anteil an freiem oder durch den Komplexbildner aus seiner Bindung zu lösendem Cadmium ist im Vergleich zur Gesamtmenge in einem Organ wie Leber oder Niere verschwindend gering und gaschromatographisch ohne Konzentrierung des Extraktes nicht nachzuweisen.

Mit Subtilisin kann Cd in Nieren nachgewiesen und gemessen werden. Die gezeigte fast vollständige Eiweißbindung des Metalls läßt jedoch keinen Schluß darauf zu, inwieweit es an Metallothionein oder an andere Strukturproteine gebunden ist. Der enzymatische Aufschluß erscheint also für die quantitative Cd- Bestimmung geeignet, wenn man berücksichtigt, daß ein Teil der Schwankungen dadurch bedingt ist, daß die verglichenen Subtilisinproben zwar vom selben Organ wie die Druckaufschlußproben, jedoch nicht vom selben Homogenat aufbereitet werden.

Ein Nachteil der Methode ist das Auftreten von organischen Verbindungen wie Pharmaka o. ä. im Chromatogramm.

Zur weiteren Untersuchung der Cadmium- Eiweißbindung kämen Ultrafiltration oder Gelchromatographie oder andere Eiweißtrennverfahren in Kombination mit dem gaschromatographischen Metallnachweis in Betracht.

### 3.5. Cadmiumnachweis in Urin:

Als leicht zugängliche Körperflüssigkeit bietet sich Urin für Cd- Bestimmungen an. Schwierigkeiten bereitet jedoch die bei nicht exponierten Personen zu erwartende geringe Konzentration des Metalls von durchschnittlich 1 ppb (20). Hier spielt auch die Gefahr der Spureneinschleppungen eine Rolle, was vielleicht auch Ursache für die breite Streuung von Konzentrationsangaben in der Literatur ist (20). Um mit der dargestellten Komplexchromatographie zu einem Nachweis von Cd zu gelangen, wäre also eine starke Konzentrierung notwendig. Sie wird entweder durch eine geringe Lösungsmittelmenge bei der Extraktion oder durch nachträgliches Einengen des Extraktes erzielt. Dabei ist das Einengen vorzuziehen. Denn bei kleinen Mengen an Lösungsmittel kommt es zu merklichen Verlusten der organischen Phase aufgrund der unvollständigen Entmischung. Außerdem liegt bei einem großen Volumenverhältnis das Gleichgewicht der Extraktion für die Chelatkomplexe auf der Seite der wässrigen Phase (47). Eine andere Möglichkeit ist der Zusatz einer definierten Menge an Cd zur Probe, durch den die Nachweisgrenze der Messung gesenkt werden könnte ( Additionsverfahren ).

#### Versuche und Ergebnisse:

a) Konzentrierbarkeit: Dazu wird eine jeweils 2 ppm Cd und Pd enthaltende Stammlösung schrittweise bis zum Faktor 100 verdünnt. Die Proben mit 2; 0,4; 0,2; 0,04; 0,02 ppm werden mit  $\text{CHCl}_3$  und Na- DEDTC extrahiert und anschließend entsprechend ihrer Verdünnung konzentriert. Die gaschromatographischen Messungen ergeben, daß auch bei einer 100 fachen Konzentrierung Cd und Pd vollständig wiedergewonnen werden und das Mengenverhältnis der Metalle zueinander konstant bleibt. Störend macht sich aber die linear mit der Konzentrierung zunehmende Menge an Cu, Zn, und auch Pb bemerkbar, die durch Spureneinschleppung

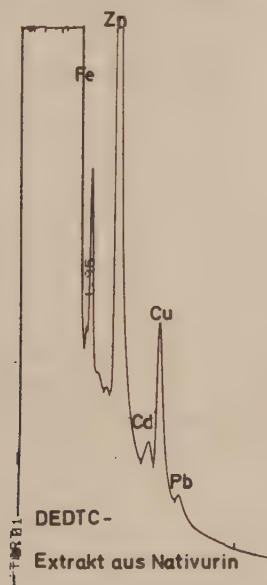
verursacht wird.

Die stärker konzentrierten Proben weisen eine deutlich höhere Stabilität auf. Dies ist vermutlich auf die größere Menge an freiem Komplexbildner in diesen Extrakten zurückzuführen. Denn Na-DEDTC wird in diesem Fall den wässrigen Lösungen in gleicher Menge zugesetzt. Die Verwendung silanisierter Gefäße erweist sich als notwendig.

b) Bei Zusatz der obigen Stammlösung zu menschlichem Urin in einer Konzentration von jeweils 20 ppb kann Cd und Pd ebenfalls vollständig wiedergewonnen werden ( Ansäuerung mit Essigsäure pH 5 ).

Konzentrationen von 20 ppb können z. B. bei akuten oder chronischen Vergiftungen auftreten. Der gaschromatographische Nachweis ist also für derartige Fälle, beispielsweise Tierexperimente geeignet.

Abb. 29: Qualitativer Cadmiumnachweis aus Nativurin:



DEDTC- Extrakt, 100 fach  
konzentriert;  
Arbeitsbedingungen s. S.  
112 und 119;

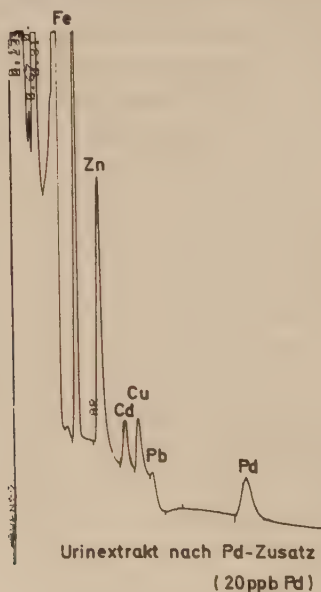
c) Cd- Untersuchung in Nativurin:

Abbildung 29 zeigt neben einigen anderen Metallen Cadmium in einer Urinprobe, die nach Aufkochen und Ansäuern mit Essigsäure ( pH 5 ) extrahiert und anschließend 100 fach konzentriert ist.

d) Bei Zusatz von Pd als Standard zu Nativurin läßt sich zwar ebenfalls Cd nachweisen. Jedoch ist eine zuverlässige quantitative Bestimmung nicht möglich. Die Ergebnisse sind nur schlecht reproduzierbar. Die Ursache dürfte einerseits bei den Schwierigkeiten der Spurenanalyse in den Konzentrationsbereichen um 1 ppb liegen, z. B. Spurenverluste durch Adsorption, Spureneinschleppung durch Verunreinigung der Gefäße oder ungenügend reine Reagenzien. Andererseits wird auch der lineare Arbeitsbereich des Gaschromatographen unterschritten. Abbildung 30 zeigt einen Urinextrakt mit Zusatz von 20 ppb Pd.

Abb. 30: Zusatz von Palladium ( 20 ppb ) zu Nativurin:

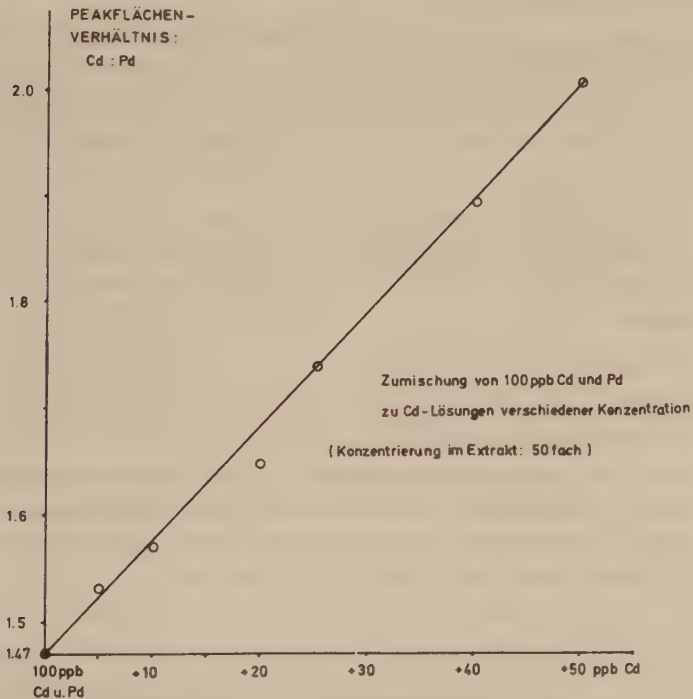
DEDTC- Extrakt; 100 fach konzentriert;  
Arbeitsbedingungen s. S. 119.



e) Zumischung von Cadmium zu wässrigen Lösungen:

Zu wässrigen Lösungen verschiedener Cadmiumkonzentration wird jeweils eine feste Menge an Cd und Pd zugesetzt. Anschließend wird extrahiert und konzentriert. Das Ergebnis zeigt Abbildung 31 ( Zusatz jeweils 100 ppb Cd und Pd ):

Abb. 31: Additionsverfahren: ( Arbeitsbedingungen s. S. 119)



Durch Zumischung wäre es also evtl. möglich, einen quantitativen Cadmiumnachweis in Nativurin oder Blut zu ermöglichen. Denn die so chromatographisch zu messende Metallmenge läge dann im linearen Meßbereich der Säule.

### Diskussion:

Ein qualitativer Nachweis von Cadmium und einigen anderen Metallen wie Zn, Cu, Hg, u. s. w. aus Urin von Normalpersonen ist möglich.

Der quantitative Cadmiumnachweis im ppb- Bereich gelingt wegen spurenanalytischer und gaschromatographischer Schwierigkeiten nicht.

Von Bedeutung ist auch, ob das Cadmium im Urin von Gesunden frei vorliegt oder an Eiweiß gebunden ist. Möglicherweise werden die breiten Streuungen bei AAS- Messungen durch einen teilweise nicht vollständigen Aufschluß verursacht (20).

Der quantitative Cadmiumnachweis könnte bei Verringerung der gaschromatographischen Nachweisgrenze durch bessere Chelatkomplexbildner oder besseres Säulenmaterial möglich werden.

Die Methode der Zumischung von Cd zur Nativprobe ist sicher auch auf andere biologische Materialien ( Leber, Blut u. s. w. ) anwendbar.

Durch die Kombination GC - MS ( s. S. 123 ) und den Einsatz von Cadmiumisotopen ( "Isotopenverdünnungsmethode" ) wäre u. U. mit der Zumischmethode eine genauere quantitative Bestimmung möglich.

## VII. A R B E I T S A N L E I T U N G

Zur gaschromatographischen Cadmiumbestimmung aus biologischem Material mit Natriumdiäthylthiocarbamat

### VII.1. Probenaufbereitung durch Druckaufschluß:

### 1. Homogenisierung der Probe:

Nach geeigneter Zerkleinerung des Materials wird 1 Teil der Probe ( z. B. 10 g Leber, Niere u. s. w. ) mit 1 Teil Essigsäure- Acetatpuffer ( 1 Teil 0,2 n Essigsäure + 1 Teil 0,2 n Na- Acetat ) versetzt und mit einem Mixer homogenisiert. Aufbewahrung erfolgt in Polyäthylenflaschen.

### 2. Druckaufschluß im Teflontiegel:

1 Teil Homogenat ( ca. 1 g für das 70 ml Unisealgefäß ) wird im Teflontiegel mit 1,5 Teilen 65 % iger  $\text{HNO}_3$  versetzt. ( Vorher genaues Auswiegen der eingebrachten Probenmenge auf der Analysenwaage ).

Aufschluß bei  $120^\circ\text{C}$  über mindestens 5 Stunden.

Für die anschließende Weiterverarbeitung empfiehlt sich die Verwendung von vorsilanisiertem Glasmaterial ( z. B. mit 5 % igem Dimethylchlorsilan, siehe Seite 54 ).

### 3. pH- Einstellung:

Die Einstellung erfolgt mit 10 % iger Na- OH- Lösung. Für 2 - 2,5 ml Probe, die aus dem Aufschlußgefäß in ein Reagenzglas überführt wurde, benötigt man ca. 3 - 4 ml. pH- Wert: 4 - 4,5; Messung mit Acilit- Stäbchen.

### 4. Zusatz der Pd- Standardlösung:

Der Pd- Zusatz kann erst nach dem Druckaufschluß erfolgen, da es sonst zu Verlusten an Pd kommt ( s. S. 101 ).

Herstellung einer 10 mg % igen Pd- Lösung aus  $\text{PdCl}_2$  in 0,1 - 0,2 n  $\text{HNO}_3$  unter leichtem Erwärmen.

Nach Maßgabe der zu erwartenden Cd- Konzentration in der Probe wird nun Pd- Standard zugesetzt. Das Konzentrationsverhältnis sollte aus Gründen der Meßgenauigkeit einen Faktor 5 nicht übersteigen. Erwartet man

beispielsweise 20 ppm Cd, bezogen auf ca. 500 mg eingebrachte Organsubstanz, so setzt man 100  $\mu$ l Pd- Lösung zu, um 20 ppm Pd auf 500 mg zu erhalten.

#### 5. Vorausschütteln:

Es soll erst nach der pH- Einstellung ausgeschüttelt werden, da eventuell im stark Säuren mit der Bildung extrahierbarer Cd- oder Pd- Verbindungen zu rechnen ist.

Mit 1 - 2 ml  $\text{CHCl}_3$  ca. 2 min. lang schütteln. Es kann ohne weiteres auf das Vorausschütteln verzichtet werden, da der Aufschluß durch Naßveraschung vollständig ist und außerdem keine Verbesserung der Chromatogramme erzielt wird.

#### 6. Extraktion:

Die wässrige 1 g % ige Na- DEDTC- Lösung sollte an jedem Arbeitstag frisch angesetzt werden. 0,5 g Na- DEDTC werden mit dest. Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Chloroformlösung: 500  $\mu$ l Äthanol auf 100 ml  $\text{CHCl}_3$  ( zur Verringerung von Grenzflächenreaktionen ).

Erstextraktion: Zugabe von 2 ml Chloroformlösung, dann 1/2 ml DEDTC- Lösung ( soll bei der höchsten zu erwartenden Gesamtmetallkonzentration einen mindestens 10 fachen Reagensüberschuß ergeben ). Nach kurzem Stehenlassen gründliches Ausschütteln für ca. 2 min., dann Stehenlassen zur vollständigen Phasentrennung. Die organische Phase wird dann mit einer Pasteurpipette aufgenommen und in ein Abdampfgefäß gebracht.

Zweitextraktion: Wiederholung des Vorganges (  $\text{CHCl}_3$  + Na- DEDTC ). Anschließend erneute pH- Bestimmung in der wässrigen Phase. In der Regel genügen zwei Extraktionsvorgänge.

### 7. Eindampfen:

Die vereinigten Chloroformextrakte werden bei 50°C im Vakuum eingedampft.

### 8. Aufnehmen:

Das Aufnehmen erfolgt entweder in reinem Äthylacetat oder einem Gemisch von 70 % Äthylacetat und 30 % Äther. Man nimmt dazu 500 - 1000  $\mu$ l. ( Das Endvolumen der Probe sollte ungefähr der Probenausgangsmenge entsprechen ).

### 9. Aufbewahrung und Lagerung:

Sie erfolgt in verschließbaren Probengläschen, die ebenfalls vorsilanisiert sein sollen. Die gaschromatographische Aufarbeitung sollte möglichst im Anschluß an die Probenherstellung erfolgen, obwohl bei Kühl-schranklagerung eine ausreichende Stabilität über mindestens 1 Woche nachgewiesen ist.

## VII.2. Enzymatischer Aufschluß mit Subtilisin:

### 1. Homogenisierung der Probe:

Die Homogenisierung erfolgt wie unter VII.1.1. angegeben. Jedoch wird nur dest. Wasser verwendet.

### 2. Subtilisinansatz:

6 g Homogenat und 1 ml Tartratlösung ( 2 g % ig ) in einem 50 ml- Schraubdeckelgefäß miteinander vermischen. Zusatz von 5 ml Trisbasenpuffer ( 1 n; pH 9,5 ). Zusatz von 10 mg % iger Pd- Standardlösung entsprechend der zu erwartenden Cd- Konzentration ( z. B. für 20 ppm Pd , bezogen auf 3 g Probeneinwaage 600  $\mu$ l Pd- Standard ) Zuletzt Zugabe von ungefähr 3 mg Subtilisinpulver = 1 Spatelspitze.

Anschließend wird die Probe für eine Stunde im Wasserbad auf 50 bis maximal 60°C erwärmt unter Verwendung eines Magnetrührers.

3. Vorausschütteln:

Das Vorausschütteln erfolgt mit 5 ml  $\text{CHCl}_3$  für 2 min.. Anschließend wird die Probe bei 2000 U / min für 5 min. zentrifugiert.

4. pH- Einstellung und Extraktion:

Der klare wässrige Überstand wird mit einer Pasteurpipette abgenommen und in ein neues Gefäß gegeben. Mit einigen Tropfen konz. Essigsäure wird ein pH von 4 bis 4,5 eingestellt.

Die Extraktion erfolgt ebenfalls mit einer 1 g % igen Na- DEDTC- Lösung und  $\text{CHCl}_3$  in zwei Schritten.

Erst- und Zweitextraktion:

Es werden 6 ml Chloroformlösung und 3 ml Na- DEDTC- Lösung zugesetzt. Schütteldauer 2 min.. Nach der Phasentrennung ( evtl. Zentrifugation ) wird die organische Phase vollständig entfernt und 1 ml davon in ein Abdampfgefäß gegeben.

5. Eindampfen und Aufnehmen:

Die vereinigten Chloroformextrakte werden bei 50°C im Vakuum eingedampft. Die Wiederaufnahme erfolgt mit 1 ml Äthylacetat. Bei Bedarf kann man von einer größeren Extraktmenge ausgehen und stärker konzentrieren.

6. Aufbewahrung:

In vorsilanisierten Probengläschen.

VII.3. Gaschromatographie:

Gerät: Hewlett- Packard HP 5830 A

Säule: Quarzglas, silanisiert, 1 m lang, Innendurchmesser:  
2 mm;

Füllmaterial: 5 % OV 101 auf Chromosorb W HP 80 / 100 mesh.

Beste Chromatographierbedingungen für Cd bei:

Trägergas: Helium ( oder auch Stickstoff )

Flow: 20 - 25 ml / min                      Hier: 23 ml / min

Detektor: N- FID.

Programm:

|             |             |
|-------------|-------------|
| Temp 1      | 230°        |
| Time 1      | 0 min       |
| Rate        | 10° / min   |
| Temp 2      | 250°        |
| Time 2      | 8 min       |
| Inj. Temp   | 280°        |
| FID- Temp   | 300°        |
| Chart Speed | 1 cm / min  |
| Flow        | 23 ml / min |

Einspritzvolumen: 1 - 4 µl; Beste Ergebnisse bei 2 µl.

Retentionszeiten für verschiedene Metalle bei den oben-  
genannten Bedingungen:

|           |                            |
|-----------|----------------------------|
| Zn        | 2,65 - 2,70 min            |
| <u>Cd</u> | 3,40 - 3,45 "              |
| Cu        | 3,70 - 3,80 "              |
| Ni        | 4,15 - 4,20 "              |
| Hg        | 4,35 - 4,40 " Doppelpeak   |
| Pb        | 4,70 - 4,75 " bei 4,65 min |
| <u>Pd</u> | 6,75 - 6,95 "              |
| Co        | 13,50 - 15,00 "            |

Eichkurve: Sie zeigt einen linearen Bereich von 1 ng Cd bis 200 ng Cd je Injektion. Als Untergrenze für die quantitative Auswertung ergibt sich also bei 2  $\mu$ l Proben-  
volumen eine Konzentration von 500 ppb im organischen Extrakt. Zur Möglichkeit der vorherigen Konzentrierung der Extrakte siehe Seite 110.

Die Auswertung erfolgt anhand des errechneten Peakflächenverhältnisses von Cd zu Pd und der eingesetzten Menge an Pd mit Hilfe einer Eichkurve.

## VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zur Bestimmung von Cadmium, einem Umweltgift mit ständig wachsender Bedeutung, in biologischem Material dargestellt. Ausgehend von der Tatsache, daß Metallchelatkomplexe der Dialkyldithiocarbaminsäuren gaschromatographierbar sind, wird der Nachweis von Cadmium im Spurenbereich untersucht. Überprüft wird zunächst die Bildung, Extraktion und Haltbarkeit der Cd(DEDTC)<sub>2</sub>-Chelate. Anschließend werden die Faktoren, die die Gaschromatographie der Chelatkomplexe beeinflussen, untersucht. Der Cadmiumnachweis wird optimiert. Organproben werden nach verschiedenen Verfahren aufgeschlossen, und das in ihnen enthaltene Cadmium wird gaschromatographisch bestimmt. Diese Messergebnisse werden durch Bestimmungen mit der flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie kontrolliert.

Dabei zeigen sich folgende Ergebnisse:

Im Spurenbereich spielen Grenzflächenreaktionen eine große Rolle. Sie machen sich sowohl bei der Gewinnung des Cd(DEDTC)<sub>2</sub>-Komplexes, als auch bei der gaschromatographi-

schen Messung störend bemerkbar. Durch verschiedene Maßnahmen lassen sich diese die Ausbeute verringernden Adsorptionswirkungen abschwächen.

Bei optimierten Bedingungen ist ein quantitativ zuverlässiger Cadmiumnachweis bis herunter zu 1 ng Metall im organischen Extrakt möglich ( = 500 ppb Cd ).

Die qualitative Nachweisgrenze liegt bei ca. 50 - 100 ppb.

Außerdem können die Proben nach der Extraktion 50 bis 100 fach konzentriert werden. Es lassen sich so bei Verwendung eines Inneren Standards 10 ppb einer wässrigen Lösung quantitativ mit hinreichender Genauigkeit bestimmen.

Komplexchromatographisch ermittelte Cadmiumkonzentrationen in Organen wie Niere und Leber von Normalpersonen ergeben eine zufriedenstellende Übereinstimmung mit den atomabsorptionsspektrometrisch gewonnenen Werten. Spezifität, Richtigkeit und Wiederholbarkeit der Messungen sind ebenfalls zufriedenstellend.

In Körperflüssigkeiten mit normalerweise niedrigen Cadmiumkonzentrationen wie Urin oder Blut gelingt zwar ein qualitativer Nachweis des Metalls, jedoch kein quantitativer.

Bei Zusatz von Cadmium zu Urin in Mengen, die bei akuten oder chronischen Vergiftungen auftreten können, ist eine quantitative Bestimmung möglich.

Trotz der im Vergleich zur flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie geringen Empfindlichkeit bietet der gaschromatographische Cadmiumnachweis einige Vorteile und Möglichkeiten:

- Schwermetallanalysen sind auch in Labors ohne spezielle Ausrüstung für anorganische Analysen möglich (13). Dabei können viele Erfahrungen aus der Gaschromatographie or-

ganischer Substanzen übernommen werden.

- Bei hoher Spezifität für ein Metall kann dennoch ein Überblick über die Konzentration anderer eventuell toxiologisch wichtiger Metalle gewonnen werden ( Multielementanalyse, Screening ). Bei der AAS muß hingegen auf jedes Metall hin separat untersucht werden.
- Die Messungen sind einfach und schnell durchzuführen. Die Verwendung eines Inneren Standards ( hier: Palladium )erübrigt das Herstellen separater Eichproben für jede Meßserie. Die Bestimmungen werden durch den Standard unabhängig von Konzentrierungs- und Verdünnungseffekten, die bei der AAS zu berücksichtigen sind.
- Der Nachweis ist über einen großen Konzentrationsbereich linear ( Gute Dynamik des N- FID ).
- Durch Komplexierung und Extraktion der Schwermetalle ist die Messung unabhängig vom Einfluß von Anionen und Alkali- und Erdalkalimetallen. Denn diese Störgrößen müssen bei der AAS besonders berücksichtigt werden. Matrixeffekte, wie sie auch bei der AAS beobachtet werden, treten ebenfalls nicht auf.
- Ein enzymatischer Aufschluß mit Subtilisin erlaubt eine schnelle Bestimmung eiweißgebundener Metalle.

Die Anwendung muß sich nicht auf menschliche Organe oder Substanzen wie Nieren, Lebern, Haare u. s. w. beschränken. Auch bei Tierexperimenten oder zur Untersuchung pflanzlichen Materials könnte die Gaschromatographie von Schwermetallen eingesetzt werden.

Sie kann als unabhängige Methode zur Bestätigung von mit anderen Verfahren bestimmten Meßwerten dienen (13).

Als mögliche Wege zur Verbesserung des chromatographischen

Metallkomplexnachweises in Zukunft seien erwähnt:

Besser geeignete flüssige Trägerphasen ( Höhere Trennschärfe und v. a. Verringerung der Grenzflächenreaktionen ).

Andere Komplexbildner mit guten Flüchtigkeitseigenschaften ( z. B. fluorierte Dialkyldithiocarbamate (67) oder das hier untersuchte Hexamethylenammonium- Hexamethylen-dithiocarbamat ).

Verwendung von Festprobengebern ( Erhöhung der Probenmengen und Beseitigung von Lösungsmittelpeaks ).

Kopplung der gaschromatographischen Trennung mit der Massenspektrometrie als Nachweisschritt ( z. B. zur Isotopenverdünnung (13) ).

Untersuchung der Cadmiumkomplexe mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie ( HPLC ) ( Vorteil: Stoffsensitive UV- Detektoren; Nachteil: geringere Säulentrennleistung ) (13).

## IX. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- (1) AHMAD, M. und AZIZ, A.: Journal of Chromatography 152, 542 - 545 (1978)
- (2) ALT, F. und MASSMANN, H.: Spectrochimica Acta 33 B 337 - 342 (1978)
- (3) ANKE, M. und SCHNEIDER, H. J.: Archiv Veterinärmedizin 25, 805 (1971)
- (4) BARRATT, R. S., BELCHER, R., STEPHEN, W. I., UDEN, P. C.: Anal. Chim. Acta 59 (1972)
- (5) BERMAN, E.: Applications of Atomic Absorption Spectrometry to Trace Metal Analyses of Toxicological Materials, Progress in Chemical Toxicology, Vol. 4 (1969) Academic Press Inc., New York.
- (6) BROWNING, E.: Toxicity of Industrial Metals, Second Edition (1969), Butterworths, London.
- (7) BURRIEL - MARTI, F. und ALVAREZ - HERRERO, C.: An. Soc. Esp. Fis. Quim., Ser. B 62, 45 - 50 (1966)
- (8) CARDWELL, T. J., DESARRO, D. J., UDEN, P. C.: Anal. Chim. Acta 85, 415 - 419 (1976)
- (9) CARRUTHERS, M. und SMITH, B.: The Lancet, April 21, 845 - 871 (1979)
- (10) D'ASCENZO, G. und WENDLANDT, W. W.: J. inorg. nucl. Chem. 32, 2431 - 2433 (1970)
- (11) DORNEMANN, A., KLEIST, H., GÖRGENS, W.: Z. Anal. Chem. 284, 97 - 99 (1977)

- (12) DORNEMANN, A. und KLEIST, H.:  
Zbl. Arbeitsmed. 6, 165 - 168 (1978)
- (13) DRASCH, G., v. MEYER, L., KAUERT, G.: The Detection of Heavy Metals by Gas- Liquid- Chromatography via the Diethyldithiocarbamates. European Meeting of TIAFT, 1979, Glasgow.
- (14) EVANS, W. H., READ, J. I., LUCAS, B. E.:  
Analyst 103, 580 - 591, June 1978
- (15) EVENSON, M. A. und ANDERSON, C. T.:  
Clinical Chemistry 21 / 4 (1975)
- (16) FISCHER, H. und WEIGERT, P.:  
Öff. Gesundheitswesen 37, 732 - 737, (1975)
- (17) FLEGLER, B., GEMMER - COLOS, V., DENCKS, A., NEEB, R.:  
Talanta 26, 761 - 764 (1979)
- (18) FLICK, D. F., KRAYBILL, H. F., DIMITROFF, J. M.:  
Environmental Research 4, 71 - 85 (1971)
- (19) FLORENCE, T. M., BATLEY, G. E.:  
Talanta 23, 179 - 186 (1976)
- (20) FRIBERG, L., PISCATOR, M., NORDBERG, G. F., KJELLSTROM, T.: Cadmium in the Environment, 2 nd Edition, Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio (1974)
- (21) FORENSIC TOXICOLOGISTS, The International Association of, European Meeting 1977.
- (22) FORTH, W. D., HENSCHLER, D., RUMMEL, W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 3. Aufl. 1980, S. 604.

- (23) FOULKES, E. C.: Toxicology and Applied Pharmacology 45, 505 - 512 (1978)
- (24) GELDMACHER - v. MALLINCKRODT und OPITZ, O.: Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Arbeitshygiene 3, 276 - 279, (1968)
- (25) GEMMER - COLOS, V. und NEEB, R.: Fresenius Z. Anal. Chem. 293, 290 (1978)
- (26) HÄRING, N., ZELL, M., BALLSCHMITER, K.: Fresenius Z. Anal. Chem. 305, 285 - 286 (1981)
- (27) HARVEY, T. C., THOMAS, B. J., MC LELLAN, J. S., FREMLIN, J. H.: The Lancet, June 7, 1975, 1269 - 1272.
- (28) HARVEY, T. C., CHETTLE, D. R., FREMLIN, J. H., AL HADDAD, I. K., DOWNEY, S. P. M. J.: The Lancet, March 10, 1979, 551.
- (29) HENKE, G., SACHS, H. W., BOHN, G.: Arch. Toxikol. 26, 8 - 16 (1970)
- (30) HOLLEMAN, A. F. und WIBERG, E.: Lehrbuch der anorganischen Chemie, 81 - 90. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin 1976.
- (31) HUNTER DAUGHTREY, E., FITCHETT, A. W., MUSHAK, P.: Analytica Chimica Acta 79, 199 - 206 (1975)
- (32) JOAS, A.: Cadmium in der Humantoxikologie, Eine Literaturübersicht. Dissertation München 1981.
- (33) KÄGI, J. H. R. und VALLEE, B. L.: The Journal of Biological Chemistry 235 / 12, 3460 - 3465 (1960)
- (34) KLEINMANN, A., NEEB, R.: Naturwissensch. 60, 201 (1973)

- (35) KLEINMANN, A. und NEEB, R.:  
Fresenius Z. Anal. Chem. 285, 107 - 109 (1977)
- (36) KOCH, O. K. und KOCH, G. A.: Handbuch der Spuren-  
analyse, 2 Bände, 2. Aufl. 1974, Springer, Berlin.
- (37) KRUPCIK, J., GARAJ, J., HOLOTIC, S., OKTAVEC, G.,  
KOSIK, M.: Journal of Chromatography 112, 189 - 196  
(1975)
- (38) KUSCHINSKY, G. und LÜLLMANN, H.: Kurzes Lehrbuch  
der Pharmakologie und Toxikologie, 8. Auflage, 1978  
Thieme, Stuttgart.
- (39) LEWIS, G., JUSKO, W. J., COUGLIN, L. L.: Journal of  
Chronical Diseases 25, 717 - 726 (1972)
- (40) LUCKEY, T. D., VENUGOPAL, B., HUTCHESON, D.: Heavy  
Metal Toxicity, Safety and Hormology, Thieme Verlag.
- (41) LUMATOM I, Instruction of Use, Gebrauchsanweisung  
Jan. 1977.
- (42) MASARYK, J., KRUPCIK, J., GARAJ, J., KOSIK, M.:  
Journal of Chromatography 115, 256 - 258 (1975)
- (43) MERCK, E.: Klinisches Labor, Darmstadt, 1974.
- (44) MOESCHLIN, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen,  
5. Auflage, 1972, Thieme Verlag, Stuttgart.
- (45) MURTHY, L., MENDEN, E. E., ELLER, P. M., PETERING,  
H. G.: Analytical Biochemistry 53, 365 - 372 (1973)
- (46) NEEB, R.: Gaschromatographie Anorganischer Stoffe-  
Einführung und Überblick.

- (47) NEEB, R.: Gaschromatographische Bestimmung von Metallen über ihre flüchtigen Chelate.
- (48) NORDBERG, G. F., PISCATOR, M., LIND, B.:  
Acta pharmacol. et toxicol. 29, 456 - 470 (1971)
- (49) NÜRNBERG, H. W.: Polarography and Voltammetry in Studies of Toxic Metals in Man and Environment,  
Sci. Tox. Environm. 12, 35 - 60 (1979)
- (50) PERKIN - ELMER: Datenblatt zur Flammenlosen AAS mit HGA 72.
- (51) PERRY, E. F., KOIRTYOHANN, S. R., PERRY, M. H. Jr.:  
Clinical Chemistry 21 / 4, 626 - 629 (1975)
- (52) PIOTROWSKI, J. K., TROJANOWSKA, B., SAPOTA, A.:  
Arch. Toxicol. 32, 351 - 360 (1974)
- (53) PISCATOR, M. und LIND, B.:  
Arch. Environm. Health 24, 426 - 431 (1972)
- (54) PULIDO, P., KÄGI, J. H. R., VALLEE, B. L.:  
Biochemistry 5 / 5, 1786 - 1777 (1966)
- (55) RODRIGUEZ - VAZQUEZ, J. A.:  
Analytica Chimica Acta 73, 1 - 32 (1974)
- (56) ROSMANITH, J., EINBRODT, H. J., PRAJSNAR, D.:  
Naturwissenschaften 63, 148 (1976)
- (57) SCHOMBURG, G.: Gaschromatographie, Verlag Chemie - Physik Verlag, Taschentext 48.
- (58) SHAIKH, Z. A. und LUCIS, O. J.:  
Arch. Environm. Health 24, 410 - 418 (1972)

- (59) SHAIKH, Z. A. und LUCIS, O. J.:  
Arch. Environm. Health 24, 419 - 425 (1972)
- (60) SHENDRIKAP, A. D., DHARMAJIAN, V., WALKER - MER-  
RICK, H., PEST, P. W.: Analytica Chimica Acta 84,  
409 - 417 (1976)
- (61) SUBTILISIN A; Use of Subtilisin A for the Release  
of Protein Bound Components, Novo Enzymes Produkt-  
information.
- (62) SUBTILISIN A, Gebrauchsanweisung, Novo Enzyme In-  
formation, März 1978.
- (63) SÜDDEUTSCHE ZEITUNG: Nr. 168, 23. 7. 1981
- (64) SYVERSEN, T. L. M.:  
Arch. Environm. Health 30, 158 - 161 (1975)
- (65) TAVLARIDIS, A. und NEEB, R.:  
Naturwissenschaften 63, 146 - 147 (1976)
- (66) TAVLARIDIS, A. und NEEB, R.:  
Fresenius Z. Anal. Chem. 282, 17 - 19 (1976)
- (67) TAVLARIDIS, A. und NEEB, R.: Fresenius Z. Anal. Chem.  
Teil I: 292, 135 - 140, Teil II: 292, 199 (1978),  
Teil III: 292, 203, Teil IV: 293, 11 (1978)
- (68) TAVLARIDIS, A. und NEEB, R.:  
Fresenius Z. Anal. Chem. 293, 211 (1978)
- (69) TAVLARIDIS, A.: Dialkylaluminiumcarbamate als Reagentien  
zur gaschromatographischen Spurenanalyse von Kat-  
ionen, GDCh- Kurs Mainz 1979.
- (70) THÜRAUF, J., SCHALLER, K.- H., Valentia, H.: Deutsches  
Ärzteblatt 16, 1129 - 1132, 17. April 1975.

- (71) TRASH, C. R.:  
Journal of Chromatographic Science 11, 196 - 198  
(1973)
- (72) UDEN, P. C., HENDERSON, D. E., KAMALIZAD, A.:  
Journal of Chromatographic Science 12, 591 - 598  
(1974)
- (73) VILLA, J. F., CHATFIELD, D. A., BURSEY, M. M.,  
HATFIELD, W. E.: Inorganica Chimica Acta 6 /2,  
332 - 334 (1972)
- (74) WALSH, P. J., KILLOUGH, G. G., ROHWER, F. S.: En-  
vironmental Science and Technology 12, 799 - 807  
(1978)
- (75) WISNIEWSKA - KNYPL, J. M., JABLONSKA, J., MYSLAK, E.:  
Arch. Tokikol. 28, 46 - 55 (1971)
- (76) Die ZEIT: Nr. 41, 3. Oktober 1980.

## L E B E N S L A U F

Am 2. Juli 1956 wurde ich, Helmut Jürgen Schmidt, als Sohn des Diplomingenieurs Dr. Ing. Friedrich Wilhelm Schmidt und seiner Ehefrau, der Ärztin Adelheid Schmidt, geb. Kirste, in München geboren.

1962 - 1966: Besuch der Volksschule in Oberschleißheim

1966 - 1975: Besuch des Domgymnasiums in Freising  
( Altsprachlicher Zweig )

1973: Dreimonatiger Schulaufenthalt am Kent College in Canterbury, England

Mai 1975: Reifeprüfung in Freising

1976: Im Sommersemester 76 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig Maximilians- Universität München

März 1978: Ärztliche Vorprüfung

März 1979: 1. Abschnitt der Ärztl. Prüfung

März 1981: 2. Abschnitt der Ärztl. Prüfung, anschließend Praktisches Jahr mit Wahlfach Dermatologie

1982: 3. Abschnitt der Ärztl. Prüfung:

Schriftlicher Teil: 6. 4. 1982

Mündlicher Teil: 5. 5. 1982

Approbation erteilt am: 1. 6. 1982









